Martin

1902

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546803_0087

N° 29

TRAVAIL DE L'INSTITUT BOUISSON-BERTRAND
DE MONTPELLIER

Contribution à l'Étude expérimentale de la Vaccination Antirabique

ESSAI D'IMMUNISATION

Par la substance nerveuse rabique modifiée par le séjour en glycérine

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à l'Ecole Supérieure de Médecine de Montpellier

Le 10 Janvier 1902

ACAD.
MED.BAT.
BIBL.

Par Emmanuel-Joseph MARTIN

Né à St-Etienne-de-Mursan, le 12 janvier 1876.
Aide-Préparateur d'Histoire Naturelle.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA MANUFACTURE DE LA CHARITÉ

1902

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. MAIRET (✲) ..... DOYEN
FORGUE ..... ASSESSEUR

Professeurs

Hygiène	MM. BERTIN-SANS (✲).
Clinique médicale	GRASSET (✲).
Clinique chirurgicale	TEDENAT.
Clinique obstétricale et Gynécologie	GRYNFELTT.
— chargé du Cours, M. VALLOIS.	
Thérapeutique et Matière médicale	HAMELIN (✲).
Clinique médicale	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerveuses.	MAIRET (✲).
Physique médicale	IMBRET.
Botanique et Histoire naturelle médicale	GRANEL.
Clinique chirurgicale	FORGUE.
Clinique ophtalmologique	TRUC.
Chimie médicale et Pharmacie	VILLE.
Physiologie	HEDON.
Histologie	VIALLETON.
Pathologie interne	DUCAMP.
Anatomie	GILIS.
Opérations et Appareils	ESTOR.
Microbiologie	RODET.
Médecine légale et Toxicologie	SARDA.
Clinique des maladies des enfants	BAUMEL.
Anatomie pathologique	BOSC.

Doyen honoraire : M. VIALLETON.
Professeurs honoraires : MM. JAUMES, PAULET (O. ✲).

Chargés de Cours complémentaires

Accouchements	MM. PUECH, agrégé.
Clinique ann. des mal. syphil. et cutan.	BROUSSE, agrégé
Clinique annexe des mal. des vieillards.	VIRES, agrégé.
Pathologie externe	DE ROUVILLE, agrége.
Pathologie générale	RAYMOND, agrégé

Agrégés en exercice

MM. BROUSSE.	MM. VALLOIS.	MM. L. IMBERT.
RAUZIER.	MOURET.	H. BERTIN-SANS.
MOITESSIER.	GALAVIELLE.	VEDEL.
DE ROUVILLE.	RAYMOND.	JEANBRAU.
PUECH.	VIRES.	POUJOL.

M. H. GOT, *Secrétaire*

Examinateurs de la Thèse

MM. RODET, *président.*	MM. GALAVIELLE, *agrégé.*
GRANEL, *professeur.*	POUJOL, *agrégé.*

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MES FRÈRES ET BEAU-FRÈRE

A MES SOEUR ET BELLE-SOEUR

A MES NEVEUX

J. MARTIN

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur RODET

DIRECTEUR
DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

A M. le Professeur Agrégé GALAVIELLE

CHEF DU SERVICE ANTIRABIQUE
A L'INSTITUT BOUISSON-BERTRAND

J. MARTIN.

INTRODUCTION

Plusieurs savants parmi lesquels Pasteur, Babès, Hœgyès, ont essayé de trouver des moyens d'atténuation du virus rabique qui puissent remplacer avantageusement la dessiccation des moelles.

Le procédé de vaccination antirabique par des séries de moelles à divers degrés de dessiccation, a donné des résultats efficaces et réguliers tant entre les mains de Pasteur, que dans les divers instituts antirabiques. Cependant Pasteur lui-même, a fait de multiples expériences pour arriver à vacciner avec une substance entièrement dépourvue de virulence.

« L'intérêt qu'offrirait la vaccination par des moelles non virulentes, dit-il dans sa lettre à Duclaux, n'a pas besoin d'être signalé. Ce serait à la fois un fait scientifique de premier ordre, et un progrès inappréciable de la méthode de prophylaxie de la rage. »

On sait, en effet, que dans le traitement actuel de la rage par la méthode Pastorienne, on donne au malade une certaine quantité de moelles de trois, quatre, cinq et six jours de dessiccation, qui ont encore généralement une grande virulence puisque, inoculées au lapin par trépanation, elles déterminent l'apparition de la rage après un temps qui varie de sept à dix jours.

Dans cette même lettre à Duclaux, Pasteur engage encore les directeurs des divers instituts à entreprendre chacun de leur côté des expériences dans ce sens.

Plein d'admiration pour la parole du Maître, nous avons voulu joindre nos modestes efforts à ceux des nombreux savants qui l'ont suivi dans cette voie. A cet effet, nous avons entrepris une série d'expériences d'atténuation des cerveaux rabiques et de vaccination, d'après une méthode récemment publiée par MM. Rodet et Galavielle, dans une communication à la société de Biologie.

Quelques expériences faites à l'institut antirabique de Montpellier avaient montré à ces auteurs que des cerveaux de virus fixe plongés en glycérine sans avoir préalablement subi l'action de l'air sec, offraient dans la conservation de leur virulence, des variations individuelles très étendues. Tandis que les uns inoculés par trépanation à des lapins après de longs mois de séjour en glycérine donnaient encore la rage, les autres après quelques mois seulement ne manifestaient déjà plus aucune action virulente. Bien mieux ces cerveaux inoculés aux lapins par diverses voies, leur conféraient un certain degré d'immunisation vis-à-vis de l'infection rabique.

Ce sont ces faits que nous nous proposons d'étudier en exposant dans ce travail les résultats de nos trois années d'expérience. Mais avant d'aborder ce qui constitue le fonds de notre sujet, il nous a paru utile de donner un rapide aperçu des diverses tentatives d'atténuation de la substance nerveuse rabique, et d'immunisation avec ces substances, qui ont été entreprises depuis Pasteur.

Voici donc comment nous avons ordonné notre ouvrage :

I. Exposé des divers essais d'atténuation et d'immunisation entrepris depuis Pasteur, par des procédés différant de sa méthode.

II. Etude de l'affaiblissement de la virulence de la matière nerveuse rabique, par un séjour prolongé en glycérine.

III. Essais d'immunisation contre le virus fixe, avec la substance ainsi conservée.

IV. Essais d'immunisation contre le virus des rues.

V. Conclusions.

Que nos Maîtres qui ont dirigé nos premiers pas dans la voie de l'expérimentation animale, et dont les conseils ne nous ont jamais fait défaut, reçoivent ici l'hommage de notre respectueuse reconnaissance.

J'ai nommé M. le professeur Rodet, directeur de l'Institut Bouisson-Bertrand, et M. le professeur agrégé Galavielle, chef du service antirabique.

Nous nous souviendrons toujours avec quelle complaisance M. Rodet mit à notre disposition, pendant plusieurs années consécutives, le personnel et le matériel du laboratoire, ainsi que les nombreux animaux indispensables pour nos recherches.

En nous faisant aujourd'hui l'honneur d'accepter la présidence de notre thèse, il nous donne encore la preuve de l'intérêt qu'il nous porte. Aussi ne pourrons nous jamais assez le remercier, ni entièrement nous libérer de la dette de reconnaissance contractée envers lui.

Nous ne saurions oublier la bienveillance que M. le professeur Granel directeur du jardin des plantes, nous a manifestée, les conseils qu'il nous a prodigués durant le cours de nos études. C'est avec empressement que nous saisissons aujourd'hui l'occasion de lui en témoigner notre vive reconnaissance.

Nous unissons dans un même sentiment de respect tous nos maîtres ; ceux de la faculté de Médecine, de qui nous tenons l'art de soulager les misères humaines, et ceux de la faculté des sciences dont l'enseignement a toujours été pour

nous une agréable diversion à nos études trop captivantes de la Médecine.

Parmi tous, M. le professeur agrégé Galavielle, a particulièrement droit à notre gratitude. Presque au début de nos études, admis en qualité d'aide préparateur à lui prêter notre modeste concours dans l'enseignement de l'histoire naturelle à la faculté de Médecine, nous avons pu de bonne heure apprécier que sa bonté n'avait d'égale que sa science et sa modestie. En maintes circonstances il a été pour nous, non un maître mais un confident, presque un ami ; qu'il nous soit permis de lui en témoigner ici notre profond et respectueux attachement.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

DE LA

VACCINATION ANTIRABIQUE

ESSAI D'IMMUNISATION

Par la substance nerveuse rabique modifiée par le séjour en glycérine

CHAPITRE PREMIER

Aperçu des divers essais d'atténuation et d'immunisation rabiques depuis Pasteur

Les premières tentatives d'atténuation des moelles rabiques datent du début des expériences de *Pasteur* sur la rage. On sait en effet que pour obtenir la vaccination des chiens qui ont servi à fonder la méthode, inaugurée chez l'homme par la vaccination de Meister, Pasteur leur inocula d'abord des moelles non virulentes, et arriva progressivement aux moelles les plus virulentes. Pour obtenir ces substances ainsi atténuées, il plaçait les moelles rabiques dans l'air sec à la température de 23° à 25°, et observait que le degré de virulence était en raison inverse de la durée d'exposition à l'air sec. *Après quinze jours* les moelles n'étaient *plus du tout virulentes*.

Avec des moelles conservées en dessiccation jusqu'à la perte de virulence, il essaya de déterminer l'état réfractaire chez des chiens et des cobayes.

Dans un grand nombre d'épreuves de ce genre, il en fut qui ne permirent pas une conclusion dégagée de toute incertitude: certaines des moelles employées avaient gardé quelque virulence. D'autres fois les inoculations de celles qui n'avaient plus du tout de virulence, ne donnèrent pas le résultat espéré, c'est-à-dire l'état réfractaire des animaux en expérience.

Cependant à plusieurs reprises il obtint des séries de moelles dont aucune, inoculée par trépanation à des *lapins* n'avait donné la rage même après deux et trois mois d'attente, et qui néanmoins avaient produit l'état réfractaire chez des *chiens* et des *cobayes* auxquels on les avaient inoculées.

Mais dans une nouvelle série d'expériences n'ayant obtenu que des résultats défavorables, des doutes s'élevèrent dans son esprit sur la rigueur de celles qu'il avait d'abord considérées comme irréprochables, et il abandonna ce genre d'expériences.

De sorte que si Pasteur a amplement démontré que la série complète des moelles, y compris les moelles virulentes donne l'immunité, il n'a pas absolument prouvé que celle-ci pût être obtenue par l'emploi exclusif des moelles dénuées de virulence.

Mais en imaginant son procédé de conservation des moelles, il demandait surtout à la dessiccation de les protéger contre l'invasion des microbes, la putréfaction. C'est à *l'oxygène de l'air* qu'il attribuait le rôle principal dans l'affaiblissement des moelles. Pour lui ce phénomène était dû à une sorte *d'oxydation du virus rabique*.

Pour établir son opinion sur des bases expérimentales, il avait même essayé de conserver des moelles dans une *atmosphère d'acide carbonique*. Dans ce milieu et à la température ordinaire les moelles conservaient leur virulence

pendant plusieurs mois pourvu qu'aucun microbe étranger ne se développât dans la substance.

Ces résultats obtenus par Pasteur en exposant ses moelles à l'air sec, furent le point de départ d'une série de recherches ayant pour but d'élucider quel est, dans la technique Pastorienne, le rôle des divers facteurs qui entrent en jeu.

Ainsi *Helmann* après quelques expériences faites au laboratoire de Saint Pétersbourg nouvellement créé, écrivait en 1886 à Pasteur, que des lapins inoculés par trépanation avec du virus séché à 35° pendant vingt-quatre heures, étaient très bien portants plusieurs mois après l'opération. Il en concluait que les moelles conservées *à 35°* dans l'air sec perdent *toute virulence en vingt-quatre heures.*

Il avait même essayé expérimentalement de tirer parti de ces moelles non virulentes. Ce sont ces substances qu'il substitue aux premières inoculations de la série Pastorienne dans la vaccination de quelques chiens. Ces animaux inoculés ensuite par trépanation avec du virus des rues résistent. Cette tentative de vaccination partielle par des moelles non virulentes, la première en date a bien peu d'importance, car il est impossible de faire la part de l'effet vaccinal des moelles desséchées et de la série qui suit. L'auteur n'en tire d'ailleurs aucune conclusion.

Par conséquent la *chaleur* semblait avoir une action très appréciable sur la marche progressive de l'atténuation de la virulence des moelles.

Bruschettini (Giorno international delle sc. Medische douxième année (1890) démontre que dans l'*Hydrogène*, dans l'*Azote*, dans le *vide* le virus rabique conserve son pouvoir pathogène pendant un temps relativement long. Dans l'*acide carbonique* ce virus est détruit au bout de treize jours. Cette contradiction avec les expériences analogues de

Pasteur s'explique sans doute par ce fait, que ce dernier opérait sur des moelles desséchées, l'autre sur des émulsions dans un liquide.

Enfin il remarqua que dans l'*hydrogène* le virus rabique conserve sa virulence même à 35° pendant cinq jours. Par conséquent, il semble d'après ses expériences que l'oxygène n'ait pas une action bien marquée dans l'atténuation des moelles. Pour lui le principal rôle revient à la chaleur et il admet en plus que l'extinction du pouvoir pathogène n'est pas dû à l'atténuation, mais à la destruction du virus.

Pour avoir une idée exacte du rôle des divers agents agissant sur les moelles, il faut nous reporter au mémoire *de Viala*.

En opérant dans *le vide* à une température oscillant entre — 4° et + 4° Viala a observé que les moelles rabiques conservent leur virulence pendant plus de cinq mois.

A 23° la virulence disparait du vingt-huitième au trente-huitième jour.

A 35° la virulence disparait du vingtième au vingt-deuxième jour.

Dans *l'acide carbonique* et à la pression athmosphérique la perte de virulence varie également avec la température.

Entre — 4 et + 4° les moelles sont encore virulentes après cinq mois.

A 23° la durée maxima de la virulence est de trente-six jours.

A 35° elle est seulement de dix-neuf à vingt-trois jours.

Dans *l'hydrogène* à 23° elles sont virulentes après trente-huit jours.

Pour se rendre compte du rôle de la dessiccation sur la perte de virulence il place une série de moelles *humides dans le vide* et constate que la durée de conservation de la virulence est bien moins longue. Dans *le vide sec* les moel-

les se dessèchent très vite et perdent très rapidement leur virulence. Ainsi en opérant entre — 4° et + 4° sur des moelles humides, il constate que la virulence se conserve cinq mois, tandis que dans le vide sec elle a disparu après dix-huit jours.

A 23° dans l'humidité elle se conserve trente-trois jours, dans le vide sec huit jours seulement.

A 35° dans l'humidité chaque moelle conserve sa virulence vingt-deux jours, dans le vide sec quarante-huit heures seulement.

Enfin en conservant des moelles dans de l'*air confiné sans potasse* à la température de 23°, il a constaté une conservation de virulence pendant neuf jours.

Il à obtenu le même résultat en opérant avec de *l'air constamment renouvelé* sans potasse.

La même expérience tentée avec de *l'air renouvelé* en *présence de la potasse* a donné une disparition de la virulence en six jours.

Par conséquent ces divers résultats montrent clairement que dans la méthode Pastorienne *la chaleur* n'est pas sans action sur l'atténuation des moelles ; que *l'oxygène* a cependant une action beauconp plus marquée, mais que le rôle le plus important dans ce phénomène revient à *la dessiccation*, c'est-à-dire à la perte de l'humidité des moelles par évaporation.

Mais avant que parut le mémoire de Viala de nombreux auteurs s'étaient occupés de la question, et leurs résultats parfois ne concordaient pas avec ces derniers, ou bien faisaient intervenir d'autres agents dans l'atténuation des moelles.

Ainsi *Celli* avait démontré que la *lumière* intervenait pour une part: les moelles conservées dans l'osbcurité s'atténuaient moins vite que, celle conservées en pleine lumière.

Mais la plupart des conclusions de ces auteurs ne s'appli-

quent pas rigoureusement à l'atténuation des moelles employées pour le traitement antirabique.

Nous avons déjà vu que Bruschettini n'opérait pas sur des moelles conservées dans l'air sec, mais sur des émulsions de moelles.

Zagari a opéré comparativement tantôt sur des moelles conservées *dans l'air sec ou humide*, dans *le vide pneumatique*, dans *l'acide carbonique*, tantôt sur des moelles immergées *dans l'eau stérilisée*, ou dans un *bouillon mélangé de glycerine* à parties égales.

Après avoir constaté, toutes choses égales d'ailleurs, que l'atténuation se faisait beaucoup plus vite à 35°, c'est à cette température qu'il a fait les divers essais. Ainsi il remarque qu'à cette température les moelles humides perdent leur virulence après cinquante-six heures dans l'air, et la conservent après cent vingt-une heures dans le vide, après cent soixante-huit heures dans l'acide carbonique. Les moelles sèches perdent leur virulence après soixante-six heures dans l'air, et la conservent après cent seize heures dans le vide.

Les résultats des expériences faites avec des moelles conservées dans l'eau ou le bouillon, s'accordent avec ces derniers, pour montrer que l'air a un rôle important dans l'atténuation. Mais cet auteur, ne mentionne aucun essai d'immunisation avec les substances ainsi atténuées.

Bon nombre d'autres auteurs ont plus spécialement envisagé l'action de *la chaleur* sur la substance rabique.

Diverses expériences faites à l'institut antirabique de Bukarest (Archives de Virchow 1887) montrent que la substance virulente exposée longtemps à la température de 75° centigrade ne donne pas la rage. Quelques essais de vaccination avec des moelles ainsi desséchées ne donnent que des résultats négatifs.

Babès constate en outre qu'une température de 63° à 70°, tue le virus rabique, et que l'inoculation de dix grammes de moelle chauffée à 70°, ne rend pas les lapins réfractaires à la trépanation avec le virus des rues. Plus tard en collaboration avec *Lepp*, il trouve que la moelle chauffée à 80° au bain-marie et qui n'est plus virulente peut donner l'immunité.

Mais ses expériences manquent de précision scientifique, car il ne dit pas toujours comment il a chauffé, ni combien de temps a duré l'action de la chaleur. Cependant ces faits méritaient d'être cités, car ils ont été le point de départ des expériences de *Puscariu et Vesesco* faites à l'institut de Jassy.

Ces auteurs acceptant les conclusions de *Proptopopoff* dans son mémoire « sur la cause de l'atténuation du virus rabique », utilisent directement l'effet de la chaleur et non de l'air sec.

Il ressort en effet des expériences de ce dernier auteur, que la moelle de lapin rabique s'affaiblit aussi vite, quand elle est exposée à la chaleur dans du bouillon glycériné, que lorsqu'on la conserve à la même température par la méthode Pasteur, c'est-à-dire, suspendue dans un flacon dont l'air est desséché par une couche de potasse caustique. C'est donc la chaleur et non l'action de l'air sec, qui amène l'atténuation du virus rabique contenu dans les moelles.

Puscariu et Vesesco commencent par vérifier sur une grande échelle le cas d'immunisation signalé par Babès, et voici leur manuel opératoire : un cerveau de lapin mort de rage est trituré dans un mortier avec 100 cc. d'eau stérilisée ; l'émulsion filtrée avec un linge stérilisé est maintenue quinze minutes au bain-marie à 80°.

Ils trouvent en opérant ainsi que les émulsions chauffées à 80° sont impuissantes à vacciner *sûrement* les chiens contre la rage. Mais comme leur bon effet n'est pas douteux, ils

les emploient comme adjuvants de la méthode Pastorienne en les substituant au bouillon, comme véhicule d'émulsion des moelles.

Sur près de cinq cent malades traités d'après cette méthode dans l'espace de cinq années, ils n'ont eu qu'une seule mort à déplorer, encore était-ce un cas de morsures graves faites par un loup.

Ces heureux résultats poussent ces auteurs, à étudier les propriétés virulentes d'une série d'émulsions chauffées à diverses températures. Avec plusieurs séries d'émulsions, préparées comme précédemment, et chauffées dix minutes à des températures variables pour chacune d'elle, ils trouvent que le virus est tué entre 50 et 60°, et que sa destruction est précédée d'une atténuation sensible. Cette atténuation par la chaleur leur paraît même plus sûre et plus régulière que l'atténuation par la déssiccation.

Après ces essais d'atténuation, ils passent aux essais de vaccination et arrivent à conclure qu'il est possible de préserver de la rage des chiens infectés par le virus des rues, en leur injectant des émulsions chauffées d'une moelle rabique,

Nous venons de voir dans un rapide exposé combien nombreux sont les essais d'atténuation par les *agents physiques*. Nous allons maintenant nous rendre compte que les *agents chimiques* n'ont pas tenté un aussi grand nombre d'auteurs.

Cependant dés 1887 *Celli* a étudié le degré de résistance du virus rabique vis à vis de certains agents chimiques. Il dit avoir détruit la virulence des moelles avec du *sublimé* avec du *permanganate de potasse*, mais le détail de ses expériences manque de précision et de netteté. Les expériences de *Blasi* et *Russo-Travali* en 1889 sur l'acide *phénique* sont passibles des mêmes reproches.

Babès et Talasescu raportent d'après leurs expériences en 1894 que le mélange de moelle filtrée sur papier Josep avec *du sublimé* à 1/1000 ou de l'acide *phénique* à 1/100 conserve sa virulence pendant plusieurs heures. Il la conserve encore après un contact de quinze à trente minutes avec de l'acide phénique à 5/100.

En dehors des expériences de *Calabrèse* en 1896 qui portent sur le virus des rues, il y a lieu d'être étonné que la plupart des auteurs que nous venons de citer, soient si sobres de détails et donnent si peu de renseignements précis sur la façon dont ils ont opéré la méthode qu'ils ont suivie. Il est bon de signaler aussi, que ces auteurs se sont bornés à des essais d'atténuation de la substance rabique sans s'occuper le moins du monde de son pouvoir immunisant.

Bien autrement précisées et détaillées sont les expériences que notre ami le docteur *Veylon,* exposait récemment dans sa thèse. Nous nous contenterons de donner ici une idée d'ensemble de ses conclusions, renvoyant à son opuscule pour les détails et conditions d'expériences.

Pour lui le *sublimé*, l'*acide phénique*, le *phénosaly*, mis en contact dans des proportions définies avec une émulsion titrée de moelle rabique de virus fixe, sont susceptibles d'en faire disparaître la virulence dans un temps donné. Un certain *nombre d'essences* (Essence de Thym, de Cannelle, d'Eucalyptus) agissent de même,

Aucun antiseptique ne peut agir immédiatement. Il faut toujours pour que le virus soit modifié, une durée de contact assez considérable, qui dans ses expériences varie de cinq minutes à une heure selon la substance employée.

De plus ces cerveaux ainsi traités manifesteraient un certain effet vaccinal à l'égard de la trépanation avec le virus des rues.

D'autres auteurs ont fait des expériences de même genre,

en essayant d'utiliser l'action de quelques *sécrétions physiologiques* sur les moelles rabiques.

En 1895 *Wyrsikowsky* démontrait après de nombreuses expériences, *que le suc gastrique* détruisait rapidement le virus de la rage des rues.

En 1892 *Tizzoni et Centanni* avaient publié en Allemagne des résultats étonnants sur le traitement, au moyen de moelles rabiques atténuées par l'action du suc gastrique artificiel. Ils avaient obtenu par une digestion de dix-neuf heures *in vitro*, une substance parfaitement inoffensive et vaccinale.

Les mêmes expériences reprises un peu plus tard par *Babès et Talasescu* venaient confirmer les résultats déjà obtenus. Ces auteurs en opérant *in vitro*, *avec du suc gastrique* retiré de l'estomac d'un chien par une fistule, obtenaient des moelles non virulentes par une digestion de quatre heures et demies seulement. Le mélange de suc gastrique et de moelle était fait dans la proportion de 10/1.

Entre temps les expériences de Tizzoni et Centanni avaient suggéré à *Nocard* l'idée *d'essayer la vaccination antirabique par le tube digestif*. Du moment en effet que, ces auteurs avec du suc gastrique avaient transformé le virus rabique en vaccin, il était intéressant d'éssayer si l'ingestion de matière nerveuse rabique, ne serait pas capable de conférer un certain degré d'immunité. Nocard s'appuyant sur quelques expériences a affirmé que non. Talasescu et Babès au contraire en opérant sur un seul chien, auraient obtenu un résultat positif. Ils expliquent l'échec de Nocard par ce fait qu'il n'a pas maintenu assez longtemps l'alimentation rabique de ses animaux d'expérience. Quoiqu'il en soit la question est encore très obscure et mériterait une étude plus approfondie.

Plus tard les expériencee de Fraser (d'Edimbourg), de Wehrmann, de Phisalix et de Calmette sur l'action antito-

xique de la bile vis à vis des divers venins animaux, et surtout les résultats obtenus par R. Koch en faisant agir la bile normale sur la peste bovine, inspirèrent à *Franzius* l'idée de rechercher si la bile n' aurait aucune action sur le virus rabique. Après avoir constaté que la bile d'animaux morts de rage n'était pas virulente, et que inoculée sous la peau elle ne conférait aucun état réfractaire à la rage, il expérimenta avec un mélange de bile rabique et de moelle rabique de virus fixe. Tous les animaux trépanés avec un mélange à parties égales de ces substances, survécurent.

Il concluait que la bile rabique jouissait d'une propriété antitoxique vis à vis du virus rabique

En 1899 *Vallée* reprenant ces expériences est arrivé à des conclusions un peu différentes.

Pour lui la bile des lapins morts de rage ne renferme pas d'antitoxine rabique. De plus elle joue à l'égard du virus rabique le rôle d'un antiseptique très actif, c'est-à-dire qu'elle fait disparaître rapidement sa virulence, c'est pourquoi l'inoculation d'un mélange de virus rabique, et de bile de lapin rabique ne tue pas les animaux. De plus elle ne leur confére aucune immunité. Enfin la bile normale agirait comme la bile des lapins rabiques.

Au même moment paraissaient les résultats des expériences de *Lebell* qui contredisaient en partie les conclusions de Vallée pour se rattacher à celles de Franzius.

Enfin dans ces derniers temps paraissait un mémoire de MM. *Galavielle et Aoûst* sur le même sujet. Ces auteurs en expérimentant toujours sur du virus fixe, avec tantôt la bile normale, tantôt la bile rabique, sont arrivés aux conclusions suivantes :

1° La bile de lapin rabique paraît agir au même titre que la bile normale ; elle ne possède pas de propriété antirabique spécifique.

2° La bile de lapin, aussi bien normale que rabique manifeste une action antivirulente lorsqu'on la met en contact avec le virus.

3° Il suffit de quelques minutes de contact pour neutraliser le virus fixe. Un contact prolongé n'a pas une infllluence proportionnelle à sa durée.

4° Les injections de bile normale ou rabique ne paraissent pas avoir d'action préventive qu'elles soient faites avant l'inoculation du virus ou pendant l'incubation.

On peut voir par le résumé de ces diverses expériences que la question de l'action de la bile vis à vis du virus rabique tant in vitro que dans l'organisme, est riche de documents, et paraît jugée.

On a fait aussi un certain nombre d'essais d'atténuation avec la *lymphe*. *Babès et Cherchez* ont introduit des fragments de moelles rabiques dans le *sac lymphatique dorsal* de la grenouille, et ont vu ces moelles s'atténuer ainsi, mais très lentement. Ce n'est guère qu'après un séjour de quinze jours que cette atténuation commence à apparaître, encore ne progresse-t-elle pas d'une façon régulière. Ces anteurs réussirent avec des moelles ainsi atténuées, à conférer l'immunité à un certain nombre de chiens, vis-à-vis de la trépanation avec du virus de la rage des rues.

En faisant agir *in vitro de la lymphe* retirée du sac dorsal d'une grenouille saine, sur une émulsion de moelle rabique de virus fixe, mélangées à parties égales, ils obtinrent un meilleur résultat, car la virulence eut entièrement disparu en quelques heures. Malheureusement le compte-rendu de leurs expériences ne signale aucun essai d'immunisation avec ces substances.

Enfin nous signalerons les expériences de *Babès et Cherchez*, qui en faisant un mélange de moelle rabique et *de sang de chien immunisé*, voient ces substances perdre bientôt

toute virulence. Ils en concluent que le sang ou, les éléments figurés d'animaux immunisés contre la rage sont en état de transmettre une certaine immunité.

Plus tard *Babès* en collaboration avec *Talaszscu* démontre que c'est *le serum* du sang qui transmet plus efficacement cette immunité. Bientôt *Tizzoni et Schwarz* faisant agir in vitro *le serum de lapin vacciné* sur le virus rabique, obtinrent des moelles, qui inoculées par trépanation à des lapins ne donnaient pas la rage. Les mêmes expériences faites avec du serum normal ne donnaient aucun résultrt.

Calabrèse ayant repris la question ne fit que confirmer ces résultats. Mais ces derniers auteurs ne firent pas d'essais d'immunisation avec ces substances.

Toutes ces diverses expériences sur l'atténuation des moelles par le sang ou le serum d'un animal immunisé, avaient été préparées par quelques essais de sérothérapie antirabique que nous allons rapidement exposer.

Babès et Lepp avaient tout d'abord démontré que des chiens recevant même après morsure, du sang d'animaux hypervaccinés pouvaient être réfractaires à la rage. D'autres expériences de *Babès et Cherchez* reprises ensuite par *Eremia* et *Talasescu* démontrèrent aussi *que le sang du chien réfractaire* à la rage, inoculé au *lapin* avant ou après l'infection avec le virus de la rage des rues, n'atténue pas sensiblement l'infection.

Chez le *chien* au contraire, cette infection s'*atténue*, et le sang de l'animal ainsi traité, paraît acquérir des propriétés immunisantes, car sur 4 chiens inoculés par trépanation avec du virus rabique et traités avec du sang de cihen réfractaire, deux ont succombé avec une prolongation notable de la période d'incubation, et les deux autres ont résisté.

Ces expériences furent reprises plus tard au laboratoire

de Montpellier, par MM. Rodet Galavielle. En opérant avec du *serum de mouton immunisé* par de grandes injections de virus rabique intra-veineuses d'après la *méthode de Galtier*, ces auteurs ont démontré après Calabrèse, que le serum de mouton ainsi immunisé jouit d'une certaine propriété préventive, mais qu'il ne semble pas supérieur à celui des autres espèces précédemment employées.

Par conséquent, de l'exposé des multiples expériences des auteurs, il ressort qu'on peut obtenir l'affaiblissement lent ou rapide de la virulence des moelles, par un très grand nombre de procédés différant de la méthode pastorienne. Quant à la possibilité de déterminer un certain degré d'immunité chez les animaux, elle paraît avoir été observée par Babès, mais n'est pas suffisamment établie à cause du petit nombre d'expériences.

Cette deuxième question a donc fait peu de progrès depuis les travaux de Pasteur, et aucun expérimentateur n'a pu doter la science d'un procédé permettant de vacciner ainsi et d'une façon sûre, contre la rage.

Nous n'avons pas la prétention d'indiquer ici un procédé conforme à ses vues, mais nous comptons exposer une nouvelle méthode d'atténuation du virus rabique.

Nous espérons en outre démontrer par nos expériences la possibilité de déterminer un certain degré d'immunité chez le lapin et chez le chien vis-à-vis de la rage, avec de la matière nerveuse entièrement dépourvue de virulence. Enfin nous avons toujours fait nos divers essais chez les animaux, par des inoculations d'un seul et même cerveau, alors que les auteurs précédents avaient toujours opéré avec des *séries* de moelles.

CHAPITRE II

Influence du séjour prolongé en glycérine sur les cerveaux rabiques

On sait que la glycérine constitue un milieu permettant la *conservation de divers virus*. Roux la conseillait spécialement pour conserver la substance virulente rabique. En publiant son mémoire, il ne poursuivait pas le but que nous nous sommes proposés nous-mêmes. Il se plaçait surtout à un point de vue pratique, et cherchait à ce moment à trouver un moyen qui permît le transport de la substance virulente rabique sans l'atténuer.

Pour Roux la glycérine bien neutre à 30° Beaumé, était un moyen très simple pour empêcher le développement de la putréfaction, sans modifier en rien le degré de virulence des cerveaux.

Il fondait son opinion sur un certain nombre d'expériences d'après lesquelles la glycérine ne détruit pas le virus rabique. Il avait pu en effet, conserver des bulbes de lapins rabiques dans ce milieu, et à la température ordinaire, pendant quatre semaines, et les inoculer ensuite. La rage s'était montrée sur les animaux témoins, aussi rapidement que si la substance avait été fraîche.

Il avait de plus constaté qu'à une température élevée la virulence ne se conserve pas aussi longtemps.

Depuis la publication de son mémoire en 1887, la glycérine est couramment employée dans certains instituts, notamment à Montpellier, pour conserver à une moelle de virulence connue, ce même degré de virulence pendant plusieurs jours.

Mais si les expériences de Roux nous disent comment se comporte un bulbe de lapin en glycérine pendant quatre semaines, elles ne nous renseignent nullement sur la disparition ou la conservation ultérieure de la virulence de ces matières.

Les cerveaux rabiques plongés en glycérine conservent-ils indéfiniment leur virulence primitive ? ou bien dans un laps de temps plus ou moins long y aurait-il un affaiblissement de la virulence ? et dans ce cas, la marche de cette atténuation serait-elle plus ou moins comparable à la marche de l'affaiblissement des moelles, dans la méthode Pastorienne ? Voilà autant de questions qui n'ont pas été élucidées et que nous nous proposons de traiter, en exposant un certain nombre d'expériences personnelles.

Pour nos divers essais, nous avons toujours employé de la glycérine neutre à 30° Beaumé, dont nous réalisions la stérilisation en mettant les flacons au four à flamber à 160° pendant trois quart d'heure, selon la méthode employée dans le laboratoire. Nous avons employé le four à flamber de préférence à l'autoclave, à cause d'une légère hydratation de la glycérine qu'il était très difficile d'éviter avec ce dernier appareil.

Chaque flacon était fermé par un bouchon à l'émeri, et contenait environ vingt cent. cubes de glycérine. Nous y introduisions dès l'autopsie, avec beaucoup de précautions aseptiques, les cerveaux de lapins morts de rage de virus fixe. Ces flacons étaient ensuite conservés à la température du laboratoire, et à une demi obscurité pendant un temps plus ou moins long, variable avec chaque groupe d'expériences.

Celles-ci ont toujours été faites sur le lapin, auquel nous inoculions sous la dure-mère quelques gouttes d'émulsion de matière rabique après trépanation. Cette dernière était

elle-même préparée très aseptiquement dans un mortier préalablement flambé, en triturant une toute petite quantité de matière rabique (gros comme une petite lentille) avec deux ou trois cent. cubes de bouillon stérilisé, ou de serum artificiel.

Nous avons d'abord opéré dans les mêmes conditions que Roux en inoculant par trépanation, sur un lapin un cerveau de virus fixe ayant séjourné seulement vingt-trois jours en glycérine.

EXPÉRIENCE I

Le lapin trépané le 26 octobre 1898 est paralysé le 2 novembre 1898 et meurt de rage les jours suivants.

La période d'incubation a donc été de sept jours, c'est-à-dire que la virulence de ce cerveau n'avait été nullement modifiée : la période d'incubation du virus fixe du laboratoire est invariablement de six ou sept jours. Nous sommes donc ici en complet accord avec Roux.

Nous allons voir maintenant ce que devient cette virulence à mesure qu'augmente le séjour du cerveau dans la glycérine. Pour cela nous exposerons les diverses expériences d'après le temps progressivement croissant des immersions des cerveaux, c'est-à-dire en commençant par ceux qui ont séjourné le moins en glycérine, pour terminer par ceux dont l'immersion est de date plus ancienne.

EXPÉRIENCE II

Un lapin est trépané le 28 septembre 1898, avec un cerveau ayant deux mois et demi d'immersion. Un mois après il n'avait manifesté aucun symptôme rabique ; il est utilisé pour une autre expérience, nous le retrouverons dans le chapitre suivant.

Par conséquent ce cerveau après deux mois et demi de

séjour en glycérine, semble avoir perdu toute virulence vis-à-vis du lapin. Ce fait doit à bon droit nous surprendre. Mais nous allons voir dans les expériences suivantes que c'est un cas exceptionnel, puisque nous verrons que la plupart des cerveaux qui ont trois, six et sept mois d'immersion en glycérine sont encore virulents.

EXPÉRIENCE III

Un cerveau du 11 août 1898 après trois mois et demi de séjour en glycérine est éprouvé :

par trépanation le 16 décembre 1898.
il est paralysé le 24 — —
il meurt de rage le 26 — —

Soit après une incubation de huit jours.

L'incubation a donc dépassé de un jour celle du virus initial; il s'agit d'une virulence à peine affaiblie.

EXPÉRIENCE IV

Un cerveau (9 septembre 1898) après quatre mois et trois jours de séjour en glycérine est éprouvé :

par trépanation le 12 janvier 1899.
le lapin paralysé le 21 — —
meurt de rage le 24 — —

L'incubation a donc été de neuf jours.

EXPÉRIENCE V

Un autre cerveau du 6 septembre 1898 après quatre mois et six jours d'immersion en glycérine, est éprouvé :

le 12 janvier 1899.
le lapin tombe paralysé le 20 — —
et meurt de rage le 23 — —

Ici quoique le cerveau eut quelques jours de plus, l'incubation a été un peu plus courte : huit jours seulement.

EXPÉRIENCE VI

Un cerveau du 30 août 1898, après une immersion de quatre mois douze jours en glycérine est éprouvé de la même façon : le 12 janvier 1899.

le lapin est paralysé le 20 — —

et meurt de rage le 23 — —

Encore une incubation de huit jours.

EXPÉRIENCE VII

Un cerveau du 23 août 1898, après une immersion de quatre mois 18 jours en glycérine est éprouvé le 19 janvier 1899,

le lapin est paralysé le 20 — —

et meurt de rage le 23 — —

Voici donc pour trois cerveaux à peu près de même âge, une incubation de huit jours.

EXPÉRIENCE VIII

Un cerveau du 30 août 1898 après six mois, vingt-quatre jours d'immersion en glycérine est éprouvé : le 24 mars 1899,

le lapin d'épreuve paralysé le 1 avril —

et meurt de rage le 4 — —

Incubation huit jours.

EXPÉRIENCE IX

Un cerveau du 23 août après sept mois d'immersion en glycérine est éprouvé par trépanation le 24 mars 1899.

le lapin d'épreuve est paralysé le 1 avril 1899
et meurt de rage le 4 — —
Incubation huit jours.

EXPÉRIENCE X

Un cerveau du 9 novembre 1899 après sept mois d'immersion en glycérine est éprouvé :
par trépanation le 8 juin 1900,
le lapin d'épreuve est paralysé le 16 juin —
et meurt de rage 19 — —
Incubation huit jours.

EXPÉRIENCE XI

Un cerveau (7 janvier 1900) après une immersion de neuf mois, vingt-un jours en glycérine est éprouvé le 28 novembre 1900.

Le lapin est encore vivant trois mois après et on l'utilise pour des expériences d'un autre ordre.

Par conséquent ce cerveau s'est montré entièrement *dénué de virulence*.

EXPÉRIENCE XII

Un cerveau (4 août 1899) après un séjour de neuf mois vingt-quatre jours en glycérine, est éprouvé le 29 mai 1900.
le lapin est paralysé le 8 juin —
et meurt de rage le 11 juin —
C'est-à-dire après une incubation de dix jours.

EXPÉRIENCE XIII

Un cerveau (16 mai 1900) après un séjour de dix mois huit jours en glycérine est éprouvé le 24 mars 1901.

Le lapin d'épreuve est suivi pendant deux mois, jusqu'au 20 mai et ne manifeste aucun symptôme rabique. Nous le considérons comme ayant survécu, et le cerveau comme *dénué de toute virulence*.

EXPÉRIENCE XIV

Un cerveau (9 novembre 1897) après un séjour de dix mois vingt-un jours en glycérine, est éprouvé le 28 septembre 1898.

Le lapin d'épreuve est suivi pendant un mois et ne manifeste aucun symptôme rabique. Après ce délai on l'utilise pour une nouvelle expérience nous le retrouverons dans le chapitre suivant. Nous considérons ce cerveau comme *dénué de toute virulence*.

EXPÉRIENCE XV

Un cerveau du (28 janvier 1899) après un séjour de douze mois, vingt-deux jours en glycérine, est éprouvé par trépanation le 20 février 1900.

Le lapin d'épreuve est observé pendant trois mois et demi et ne manifeste aucun symptôme rabique. On en conclut à la *non virulence* du cerveau, et le lapin est utilisé pour des expériences d'un autre ordre.

EXPÉRIENCE XVI

Un cerveau du (4 juin 1900) après un séjour de quatorze mois, huit jours en glycérine, est éprouvé par trépanation le 12 août 1901.

Le lapin d'épreuve n'amanifesté aucun symptôme rabique pendant trois mois. Il est mort le 10 novembre sans que l'on ait saisi dans les jours qui ont précédé, des symptômes paralytiques. Par conséquent nous concluons à la *non virulence du cerveau*.

Ce lapin n'ayant pas été vu, dans les trois ou quatre jours qui ont précédé sa mort, l'inoculation qui aurait été décisive, n'a pu être pratiquée, à cause de l'état du cerveau au moment de l'autopsie.

EXPÉRIENCE XVII

Un cerveau du (10 octobre 1898) après un séjour de quinze mois huit jours, en glycérine est éprouvé par trépanation le 18 janvier 1900.

Le lapin d'épreuve ne présente pendant les deux mois qui suivent, aucun symptôme rabique. Il meurt le 23 avril de maladie indéterminée, sans symptômes paralytiques, ni aucun des signes cliniques de la rage. Le cerveau n'est *pas virulent.*

EXPÉRIENCE XVIII

Un cerveau du (1er octobre 1898) après un séjour de quinze mois dix-huit jours en glycérine est éprouvé par trépanation le 18 janvier 1900.

Le lapin d'épreuve observé pendant un mois et demi n'a manifesté aucun symptôme rabique. Par conséquent le cerveau employé était *dénué de toute virulence.*

EXPÉRIENCE XIX

Un cerveau (10 décembre 1898) après un séjour de dix-sept mois en glycérine est éprouvé par trépanation le 11 mai 1900.

Le lapin est suivi pendant cinq semaines. Il meurt le dix-sept juin sans jamais avoir présenté de symptômes rabiques. Ce cerveau n'est donc *pas virulent.*

EXPÉRIENCE XX

Un cerveau (24 novembre 1898) après dix-sept mois, seize jours d'immersion en glycérine est éprouvé le 11 mai 1900.

Le lapin d'épreuve présente dès le 22 mai des troubles de l'équilibre dûs à de la paralysie des membres, surtout accusée aux membres postérieurs. Ces troubles arrivent à la paraplégie totale, mais rétrocèdent le lendemain, et deux jours après, c'est-à-dire le 24, le lapin était entièrement guéri. Très régulièrement suivi le lapin n'a présenté par la suite rien d'anormal, jusqu'au 10 juillet. A ce moment les phénomènes paralytiques recommencent. Le 11, le lapin est sur le flanc, il meurt le 12 juillet. L'inoculation de son cerveau n'a pu être faite.

Par conséquent voici un cerveau qui a tué son lapin après une période d'incubation de deux mois, nous avons donc saisi sur lui une virulence en train de s'éteindre.

Mais le fait le plus intéressant dans son histoire, c'est la régression des phénomènes paralytiques apparus dès le onzième jour. Nous n'avons eu qu'une seule fois l'occasion d'observer ce fait et nous le considérons comme très exceptionnel.

EXPÉRIENCE XXI

Un cerveau (22 novembre 1899) après dix-huit mois six jours d'immersion en glycérine est éprouvé par trépanation le 28 mai 1901.

Le lapin régulièrement suivi, n'a jamais présenté de phénomènes rabiques. Il est mort dans les premiers jours d'août c'est à dire après deux mois et demi. L'autopsie n'ayant pas été faite, on n'a pas déterminé la cause de cette mort. Mais puisqu'il n'a pas présenté les caractères cliniques des animaux mourant de rage, nous considèrons que ce lapin est

mort à la suite d'un état absolûment étranger à ce qui nous intéresse, et que le cerveau n'*était pas virulent*.

EXPÉRIENCE XXII

Un cerveau (23 septembre 1898)après dix-neuf mois d'immersion en glycérine est éprouvé le 20 avril 1900.

Le lapin d'épreuve est suivi régulièrement pendant deux mois et ne présente jamais de phénomènes rabiques. Il meurt d'accidents gastro-intestinaux le 26 juin.

Ce cerveau n'est donc *pas virulent*.

EXPÉRIENCE XXIII

Un cerveau (6 septembre 1898) après dix-neuf mois et demi d'immersion en glycérine est éprouvé par trépanation le 20 Avril 1900.

Le lapin d'épreuve suivi pendant deux mois et demi jusque dans les premiers jours de juillet n'a jamais présenté rien d'anormal.

Le cerveau n'était donc *pas virulent*.

EXPÉRIENCE XXIV

Un cerveau (11 novembre 1897) après trente-un mois de séjour en glycérine est éprouvé par trépanation le 6 juin 1900.

Le lapin d'épreuve régulièrement suivi n'a rien présenté d'anormal pendant les quelques jours qui ont suivi la trépanation. Puis le 4 juillet c'est à dire vingt-huit jours après, les phénomènes paralytiques ont apparu et le lapin est mort en deux jours.

La virulence de ce cerveau avait donc subi un affaiblissement très accentué, puisqu'il a donné, une période d'incubation supérieure à celle de la rage des rues.

Frappé de l'action atténuante à longue portée qu'exerce la glycérine sur la matière nerveuse rabique, et de l'inconvénient que présente la conservation d'une grande quantité de ces éléments, pendant des mois et des années, nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible d'arriver au même résultat d'une façon plus rapide. Pour cela nous avons utilisé l'effet d'une haute température.

Nous avons vu dans le chapitre précèdent que bon nombre d'auteurs avaient pu obtenir rapidement par divers procédés sous l'action de la chaleur, des substances entièrement dépourvues de virulence vis à vis du lapin. Nous avons pensé que unies à l'action de la glycérine, des températures relativement peu intenses et très faciles à réaliser dans un laboratoire, nous permettraient d'obtenir en quelques heures des substances non virulentes.

Nos divers essais ont été faits à la température de 37° et de 42°. Pour cela nous nous contentions de mettre le flacon de glycérine contenant le cerveau de virus fixe frais, dans une étuve réglée à la température voulue. Après un nombre d'heures déterminé nous enlevions le flacon pour procéder à la trépanation du lapin d'épreuve.

Essais faits à la température de 37° :

ÉXPÉRIENCE XXV

Un cerveau de virus fixe frais plongé en glycérine est mis à l'étuve à 37° le 13 mars 1901 à cinq heures du soir.

Le 14 mars à trois heures après vingt-deux heures d'étuve le cerveau est enlevé et éprouvé par trépanation immédiate sur le lapin.

Ce lapin d'épreuve tombe paralysé le 22 mars.

et meurt de rage le 23 —

Ce cerveau avait donc été partiellement atténué, puisqu'il a donné une incubation de huit jours.

EXPÉRIENCE XXVI

Un cerveau de virus fixe frais, plongé en glycérine est mis à l'étuve a 37° pendant quarante huit heures, et éprouvé par trépanation sur le lapin le 21 mars 1901.

Le lapin d'épreuve est paralysé le 1 avril —

et meurt de rage le 3 — —

L'incubation est donc de onze jours, c'est à dire que la virulence de ce cerveau est fortement affaiblie, puisque comme nous le verrons tout à l'heure, une période d'incubation de onze jours est le dernier terme de passage à la virulence nulle, qui se manifeste par la survie.

EXPÉRIENCE XXVII

Un cerveau de lapin mort de rage de virus fixe le 4 mars est immédiatement plongé en glycérine et porté à l'étuve à 37°.

Après quatre jours d'étuve le huit mars le cerveau est retiré et éprouvé par trépanation, sur un lapin.

Le lapin d'épreuve suivi pendant un mois ne manifeste aucun symptôme rabique. Il meurt le 6 avril d'accidents intestinaux. Le cerveau essayé avait donc *perdu toute virulence.*

Ces trois dernières expériences nous permettent de conclure à l'efficacité très réelle d'une température élevée unie à l'action de la glycérine, pour obtenir rapidement l'atténuation d'un cerveau rabique fixe. Nous voyons qu'a 37° la virulence d'un cerveau est légèrement affaiblie après vingt-deux heures, fortement après quarante huit heures, et a totalement disparu après quatre jours.

Voyons si une température un peu supérieure nous donnera des résultats encore plus rapides.

Essais faits à la température de 42° :

EXPÉRIENCE XXVIII

Un cerveau de lapin mort de rage de virus fixe le 8 mars est mis à l'étuve à 42° le 13 mars 1901 à cinq heures.

Il est retiré après vingt-quatre heures, et immédiatement éprouvé sur un lapin. Ce dernier tombe paralysé le 22 et meurt le 23 mars.

La période d'incubation a donc été de huit jours.

EXPÉRIENCE XXIX

Un cerveau de lapin mort de rage de virus fixe est mis à à l'étuve à 42°, pendant quarante huit heures.

Un lapin d'épreuve est trépané le 21 mars 1901. Celui-ci se porte très bien jusqu'au 1er août. A ce moment apparaît une sorte de titubation du lapin qui prend bientôt un caractère spécial. Dès le 6 août il tient constamment la tête inclinée du côté gauche, et quand il veut se porter en avant il pirouette sur son dos toujours du côté gauche, après deux ou trois tours il retrouve sa position d'équilibre sur ses pattes. Ces troubles de la marche demeurent quelques temps stationnaires, le lapin vit au milieu des autres et se nourrit bien, puis le 19 août il tombe sur le flanc et meurt le 20 août.

Ce cerveau avait une virulence nulle puisqu'il a laissé survivre le lapin d'épreuve pendant cinq mois.

EXPÉRIENCE XXX

Un cerveau de lapin mort de rage de virus fixe le 31 février est mis à l'étuve à 42° le 4 mars. Après quatre jours d'étuve il est éprouvé par trépanation sur le lapin le 8 mars.

Ce lapin d'épreuve ne manifeste aucun symptôme rabique pendant un mois et meurt d'accidents intestinaux le 3 avril.

Le cerveau n'était donc *plus virulent.*

EXPÉRIENCE XXXI

Un cerveau de lapin mort de rage de virus fixe le 4 août, est mis à l'étuve à 42° le 9 août à cinq heures du soir.

On le retire après *soixante-huit heures d'étuve* le 12 août à onze heures, et on éprouve sa virulence par trépanation sur un autre lapin.

Ce lapin d'épreuve trépané le 12 août, a été suivi pendant deux mois et demi, et n'a jamais présenté de symptômes rabiques. Atteint de gale il est sacrifié le 25 octobre 1901.

Le cerveau n'était donc *plus virulent.* On l'a utilisé pour des expériences d'immunisation.

Le succès plus grand de nos essais à la température de 42° relativement à ceux de 37°, nous permet de dire qu'en élevant progressivement la température, on arriverait à détruire la virulence des cerveaux en un temps très court. Nous savons d'ailleurs d'après Pucarius et Vesesco que la substance nerveuse en émulsion dans du bouillon stérilisé sans action sur elle, perd toute virulence à 80° en quinze minutes au bain marie.

Par conséquent des températures de 37° et 42° facilement réalisables, unies à l'action de la glycérine, nous paraissent largement suffisantes pour obtenir une rapide disparition de la virulence de la matière nerveuse.

Toutefois nous devons faire observer que la parcelle de substance nerveuse utilisée pour vérifier le cerveau, était prise sur les bords. Il est possible que, étant donnée l'épaisseur d'un cerveau de lapin, une parcelle centrale fût plus virulente que celle que nous avons employée. Pour avoir un cerveau dont toutes les parcelles auraient un même degré de virulence il faudrait faire une émulsion en glycérine Nnous n'insisterons pas davantage sur ces faits, car nous avons voulu simplement montrer qu'on pouvait facilement utiliser l'action de la chaleur dans notre méthode d'atténuation pour avoir rapidement des cerveaux non virulents.

Si maintenant nous examinons dans leur ensemble les résultats de ces expériences, en laissant de côté les quelques unes où l'atténuation des cerveaux a été obtenue sous l'influence d'une température élevée persistante, nous remarquons que la substance *nerveuse rabique, ayant séjourné un laps de temps inférieur à un mois, n'est nullement modifiée dans sa virulence.*

Après deux mois au contraire la virulence paraît avoir atteint son degré maximum d'affaiblissement ,c'est-à-dire que le cerveau n'est plus du tout virulent. Mais ce résultat qui surprend au premier abord, nous paraît être un fait exceptionnel, car dans des laps de temps plus longs, la virulence est encore conservée. Néanmoins nous ne retrouvons plus que des incubations d'au moins huit jours, c'est-à-dire légèrement supérieures à l'incubation caractéristique de notre virus fixe qui est de sept jours.

Ce léger affaiblissement constant après deux mois, *n'est pas régulièrement progressif avec la durée d'immersion en glycérine.* Nous observons cette virulence de huit jours au troisième mois comme au quatrième ou au cinquième. Elle se maintient même jusqu'au huitième mois, puis au neu-

vième nous avons une incubation de dix jours, et brusquement au dixième mois nous tombons sur des cerveaux entièrement dépourvus de virulence.

En somme *la persistance de la virulence* avec des incubations variables de huit jours à dix jours *paraît être la règle de deux mois à neuf mois*. Le cas unique de déperdition complète de virulence à quatre mois serait l'exception.

Au contraire *après dix mois la dispration de la virulence serait la règle*, et la persistance de la virulence serait l'exception. Sur douze cerveaux de plus de dix mois, deux fois seulement nous avons vu les lapins d'épreuve mourir de rage. Chose remarquable dans les deux cas la mort a été tardive

Enfin *pour une même durée d'immersion en glycérine nous n'observons pas un même degré d'affaiblissement*. Quatre cerveaux ayant de quatre à cinq mois de séjour en glycérine, ont donné des incubations inégales de huit et neuf jours.

Mais le fait le plus intéressant de ces divers résultats, c'est la chute brusque d'une incubation de dix jours à une incubation indéfinie. Dans deux cas cependant nous avons observé des incubations de deux mois et de vingt huit jours. Mais le premier de ces faits peut encore se rattacher au premier groupe, c'est-à-dire au cas d'incubation de dix à onze jours, car si la rage n'a été mortelle qu'après deux mois, il n'en est pas moins vrai que les phénomènes paralytiques sont apparus au onzième jour. C'est donc à titre exceptionnel que nous observons un seul cas d'incubation supérieure à ce délai.

Nous pouvons maintenant rapprocher la marche de l'affaiblissement dans les cerveaux plongés en glycérine, d'avec la marche régressive que suit la virulence des moelles conservées en dessiccation, par la méthode Pastorienne.

Bien peu de travaux ont été publiés sur ce sujet leurs

résultats semblent même contradictoires. Gamaleïa croit avoir observé une gamme descendante de moelles d'abord très virulentes, qui allaient s'affaiblissant progressivement jusqu'à la déperdition complète de toute virulence.

Si au contraire nous nous reportons au mémoire de Viala sur les causes d'atténuation des moelles rabiques, nous y trouvons quelques expériences pouvant entrer dans notre sujet, mais dont les résultats diffèrent totalement de ceux-ci. Nous y trouvons en effet des incubations variables de sept à onze jours, mais jamais supérieures à ce délai.

Les conclusions tirées d'un certain nombre d'expériences faites à Montpellier, et communiquées récemment à la Société de Biologie par MM. Rodet et Galavielle, concordent parfaitement avec les expériences de Viala. Ces auteurs notamment n'ont jamais réussi à saisir cette gamme complète d'affaiblissement graduel dont parle Gamaleïa. Une seule fois, à titre d'exception ils ont observé un degré de virulence comparable au virus rabique des rues.

D'après leurs expériences une moelle au quatrième jour de dessiccation a acquis un affaiblissement qui porte sa période d'incubation à huit jours. Sa virulence, en tenant compte des variétés possibles, serait donc comparable à celle de nos cerveaux qui ont subi de deux à huit mois de séjour en glycérine.

L'affaiblissement de leurs moelles comme pour nos cerveaux, n'est pas dans un rapport constant avec la durée de dessiccation ou d'immersion.

Pour une même durée de dessiccation ou d'immersion, pour les moelles comme pour nos cerveaux, on n'observe pas un même degré de virulence.

Enfin et surtout ces auteurs n'ont jamais observé, sauf un cas qu'ils considèrent comme exceptionnel, de durée d'incubation supérieure à onze jours, aucun terme de tran-

sition entre ce degré d'atténuation et l'affaiblisement total de la virulence.

Dans nos expériences cependant, en ne tenant pas compte de l'incubation de deux mois (expérience XX,) puisque le lapin d'épreuve avait déjà présenté des manifestations paralytiques dès le onzième jour, nous avons un cas d'incubation d'un mois, (expérience XXIV) témoin possible d'un degré de l'échelle de virulence de Gameleïa. Mais ce fait unique est trop égaré, pour que nous ne nous croyons pas autorisés à le regarder comme très exceptionnel.

En somme nous croyons que nos expériences se rapprochent beaucoup plus par leurs résultats de celles de MM. Rodet et Galavielle sur la marche de la virulence dans les moelles en dessiccation, et qu'elles supportent la même interprétation.

Nous pensons avec eux, que les stades d'affaiblisssement manifestés par les incubations de huit à onze jours dénotent réellement l'existence de *l'atténuation des éléments virulents*. Que ceci se complique *d'une raréfaction du virus* c'est fort possible.

Mais ce n'est pas à dire que les éléments pathogènes ne passent pas avant de mourir par une phase d'atténuation. Celle-ci, il est vrai, ne serait pas du même ordre que celle que peuvent donner les passages successifs au travers des divers organismes animaux, puisque on n'observe jamais un degré de virulence analogue au virus rabique des rues, elle serait plutôt de l'ordre de celles que M. Chauveau a dénommées individuelles.

Toutefois l'atténuation cadre mal avec le passage brusque d'une virulence encore forte à l'absence de virulence. Ce fait nous paraît trouver une explication satisfaisante, si l'on admet dans les moelles rabiques *à côté des éléments virulents une substance capable de masquer leurs effets*

Une telle substance ne suffirait pas à protéger l'organisme devant les éléments rabiques doués de toute leur activité ou trop peu affaiblis, mais manifesterait son action lorsque ces derniers sont amenés à un degré d'atténuation suffisante.

En somme, indépendamment de quelques facteurs accessoires qui peuvent entrer en jeu dans certains de nos faits, nous pensons que les particularités les plus remarquables de nos expériences peuvent s'expliquer en invoquant, d'une part l'atténuation des éléments virulents, d'autre part la présence d'une matière capable d'en masquer entièrement les effets.

CHAPITRE III

Essais d'immunisation

Dans le chapitre précédent nous nous sommes préoccupés de savoir ce que devenait le pouvoir virulent des cerveaux immergés en glycérine, laissant de côté, à dessein, les autres modifications qui peuvent se produire dans la substance nerveuse rabique sous l'influence de cet agent.

Nous avons admis en effet la présence dans la matière nerveuse rabique, à côté d'un principe virulent, d'une *autre substance capable d'en masquer complètement les effets.* Mais, nous savons depuis Pasteur, que les moelles rabiques introduites dans l'organisme d'une façon toute spéciale, non seulement ne déterminent pas d'accidents rabiques, mais encore *produisent un état réfractaire.* Ces deux propriétés différentes de la substance nerveuse rabique seraient-elles dues à deux principes distincts, ou bien sont-elles l'effet d'un seul et même principe ? Nous nous rattachons plus volontiers à la dernière hypothèse comme étant plus rationnelle et plus simple, et d'ailleurs pour admettre la présence des deux principes distincts il faudrait les isoler.

Mais, que ces effets soient dûs à une même cause ou à des principes distincts, il nous a paru intéressant de rechercher ce que devient le pouvoir immunisant de la matière nerveuse, alors que la virulence est plus ou moins modifiée par un séjour prolongé en glycérine.

Dans ce but nous avons entrepris plusieurs séries d'expériences destinées à déterminer le pouvoir immunisant

de la matière rabique ainsi conservée, pendant des intervalles de temps plus ou moins longs, et ayant divers degrès de virulence. Nous avons insisté surtout sur les cerveaux qui ne manifestaient plus aucune virulence par trépanation sur le lapin.

Nous avons utilisé pour cela les cerveaux dont l'histoire se trouve exposée en détail dans le chapitre précédent ; il suffira par conséquent pour se rendre compte du degré de chacun, de se reporter aux quelques pages qui précèdent, et l'on reconnaîtra chaque cerveau à la date inscrite en regard, qui est celle de l'immersion en glycérine.

Nous devons faire remarquer que nos divers essais d'immunisation avec ces cerveaux ont toujours été faits à la même date ou à quelques jours près, que la trépanation du lapin qui a servi à déterminer le degrè de virulence. Par-conséquent la période d'incubation manifestée par chaque cerveau, mesure bien exactement son degré de virulence, au moment où nous l'avons utilisé pour nos essais d'immunisation.

Nos divers essais d'immunisation ont tous été faits sur des lapins ou des chiens, par des inoculations multiples, répétées à peu près tous les jours et environ à la même heure. Pour avoir une idée d'ensemble sur le pouvoir immunisant des substances employées nous avons varié le plus possible, les conditions expérimentales :

Les *injections immunisantes* étaient administrées dans quelques séries par la voie sous-cutanée, dans d'autres par la voie péritonéale. Elles étaient faites tantôt préventivement, c'est à dire avant l'introduction de la matière virulente, tantôt au contraire pendant l'incubation, au début ou à la fin. Enfin dans quelques cas commencées avant l'infection, elles subissaient un arrêt de quelques jours pendant

lequel on inoculait la rage, et les injections immunisantes étaient reprises pendant l'incubation.

L'*inoculation de la matière virulente*, faite le plus souvent par trépanation, a donc tantôt suivi, tantôt précédé celle de la matière vaccinale. Dans bon nombre de cas cependant la matière virulente a été administrée soit par la voie sous-cutanée, soit par la voie intra-oculaire. Une seule inoculation nous a suffi par la voie intra-cranienne ou intra-oculaire ; nous les répétions au contraire pendant plusieurs jours, quand il s'agissait d'infection par la voie sous-cutanée.

Nous avons employé pour cela soit du virus des rues soit du virus fixe.

Les émulsions étaient préparées de la même façon que celles du chapitre précédent, la quantité injectée variait de quelques gouttes à plusieurs centimètres cubes selon le mode d'administration employé.

Enfin nous n'avons constamment employé pour chaque essai d'immunisation qu'un seul et même cerveau.

Cependant dès le début de nos expériences, nous avons opéré comme les auteurs qui nous avaient précédé dans cette voie c'est-à-dire avec des cerveaux en série. Ainsi dans quelques expériences, nous avons inoculé des cerveaux de moins en moins anciens, mais toujours virulents, en complétant la série par des injections de virus frais.

Essais d'immunisation
contre le virus fixe, avec des cerveaux encore virulents :

EXPÉRIENCE XXXII (27 octobre 1898)

Un lapin reçoit en *injections sous-cutanées* une série de cerveaux virulents ayant séjourné de trois mois à quelques jours en glycérine.

26 Octobre	injection	avec	un	cerveau	du	4 juillet 1898
28 —	—	—	—		29 août	—
31 —	—	—	—		15 sept.	—
3 novemb.	—	—	—		26 —	—
5 —	—	—	—		3 octob.	—
7 —	—	—	—		27 —	—
9 —	—	—	—		3 nov.	—

Enfin du 11 au 19 novembre ce lapin reçoit six injections de virus fixe frais. Le 19 novembre il reçoit par trépanation quelques gouttes d'émulsion de virus fixe. Il tombe paralysé le 2 décembre et meurt le 7. La période d'incubation a donc été de 13 jours c'est-à-dire qu'elle a subi une prolongation d'au moins six jours. Doit-on attribuer ce léger degré d'immunisation à l'action des cerveaux déjà atténués qui ont commencé la série, ou bien aux injections de virus fixe frais qui ont suivi ? Les expériences suivantes vont nous permettre de conclure.

EXPÉRIENCE XXXIII (17 novembre 1898)

Dans cette expérience, dans le but de déterminer si quelques injections sous-cutanées de virus fixe frais pouvaient faire naître chez le lapin un certain degré d'immunité vis-à-vis de l'épreuve par trépanation avec du virus fixe, nous avons administré à un lapin en trois jours, trois inoculations sous-cutanées de virus fixe, du 16 au 19 novembre.

Ce lapin est trépané ensuite le 19 novembre avec virus fixe.

Il est paralysé le 26 — —

Et meurt de rage le 30 — —

La période d'incubation a donc été de sept jours, c'est-à-dire nullement modifiée. Nous pouvons donc conclure que quelques inoculations de virus fixe frais n'ont manifesté

aucun effet modificateur sur la période d'incubation du virus fixe par trépanation.

Il semble bien d'après ce résultat que le léger degré de prolongation d'incubation manifesté dans l'expérience précédente soit dû aux cerveaux déjà modifiés.

Nous allons faire la contre-épreuve en essayant de déterminer cette atténuation chez des lapins, par l'emploi exclusif d'inoculations de cerveaux déjà modifiés.

EXPÉRIENCE XXXIV (27 novembre 1898)

Deux lapins reçoivent du 26 novembre au 23 décembre neuf inoculations de 5 cent. cubes d'émulsion de cerveau du 29 août employé dans l'avant-dernière expérience.

Les deux lapins trépanés le 6 janvier 1899 tombent paralysés le 13 après une incubation de sept jours, et meurent le 17 janvier. Nous n'avons donc pas obtenu de prolongation d'incubation.

Les résultats de ces deux dernières expériences ne peuvent pas nous autoriser à rapporter le degré d'immunisation observé dans l'expérience XXXII aux premiers cerveaux de la série plutôt qu'aux injections terminales.

Mais une nouvelle expérience faite à une date ultérieure, semblerait devoir nous faire, pencher pour les inoculations terminales, et à ce titre nous allons la rapporter.

EXPÉRIENCE XXXV (28 janvier 1899)

Un lapin reçoit du 28 janvier au 9 février onze inoculations sous-cutanées de virus fixe frais.

Il est trépané lé 11 février et la paralysie rabique se manifeste le 19; c'est-à-dire après huit jours. Le lapin meurt le 24.

Cette incubation de huit jours que nous considérons

comme prolongée de un jour, comparativement à celle que donne le virus fixe du laboratoire, n'est pas suffisante pour nous permettre de conclure. Par conséquent nous ne pouvons nous prononcer d'une façon ferme, mais nous pensons tout de même, que l'effet vaccinal observé, s'il n'est pas entièrement dû aux cerveaux qui ont commencé la série, ne doit pas non plus être exclusivement rapporté aux injections de virus frais qui l'ont clôturée.

Nous avons fait par la *voie péritonéale* des expériences absolument identiques aux précédentes.

EXPÉRIENCE XXXVI (26 octobre 1898)

Un lapin reçoit en injection *intra péritonéale*, une série de cerveaux virulents ayant séjourné de trois mois à quelques jours en glycérine.

26	octobre	injection avec un	cerveau	du	4 juillet 1898.
28	—	—	—		29 août —
31	—	—	—		19 sept, —
3	novembre	—	—		26 — —
5	—	—	—		3 octob. —
7	—	—	—		27 — —
9	—	—	—		3 nov. —

Ce lapin a ensuite reçu du 11 au 19 novembre cinq inoculations intra péritonéales de virus fixe.

Il a été trépané avec du virus fixe le 19 novembre, et suivi pendant plus de deux mois. Durant cette période il n'a jamais manifesté de phénomènes rabiques. Mais atteint de gale en janvier 1899, il a été sacrifié le 28 de ce mois. Nous nous croyons autorisés à le considérer comme ayant été rendu réfractaire à la rage.

Comme dans la série précédente nous nous sommes demandés à quelles inoculations il fallait rapporter la plus grande part de cette immunité et nous avons fait deux expériences avec le virus fixe qui a terminé la série; deux autres avec les cerveaux du début.

EXPÉRIENCE XXXVII (16 novembre 1898)

Un lapin reçoit du 16 au 18 novembre trois inoculations intra péritonéales de 5 centimètres de virus fixe.

Il est trépané le 19 novembre avec du virus fixe, et les paralysies rabiques apparaissent le 26, c'est-à-dire après sept jours. Le lapin meurt le 30. Nous n'avons par conséquent pas obtenu le moindre degré d'immunité.

Une deuxième expérience analogue n'a pas donné plus de résultat :

EXPÉRIENCE XXXVIII (29 janvier 1899)

Un lapin reçoit du 28 janvier au 9 février onze inoculations intra péritonéales de 5 centimètres cubes de virus fixe.

Il est trépané le 11 février et paralysé le 18, c'est-à-dire après une incubation de sept jours ; il meurt de rage le 20.

Par conséquent il ne semble pas que de multiples inoculations de virus fixe frais dans le péritoine, puissent donner naissance à cet état réfractaire observé plus haut.

EXPÉRIENCE XXXIX (15 novembre 1898)

Un lapin reçoit dans le péritoine du 16 au 26 novembre sept injections de 5 cent. cubes de cerveau, du 4 juillet, employé au début de l'expérience XXXVI.

Il reçoit en plus, du 28 novembre au 23 décembre neuf

injections de 5 cent. cubes de cerveau du 29 août employé dans la même expérience.

Il est trépané avec du virus fixe le 6 janvier, et paralysé après huit jours d'incubation le 14 janvier. Il meurt le 17 janvier. Nous avons un jour de prolongation d'incubation.

EXPÉRIENCE XL (26 novembre 1898)

Un lapin reçoit dans le péritoine du 27 novembre au 23 décembre neuf injections de 5 cent. cubes de cerveau du 29 août.

Il est trépané le 6 janvier 1899. Le lapin après quinze jours n'avait manifesté aucun symptôme de rage. Malheureusement après le 29 janvier il n'a plus été suivi d'une façon régulière, et nous n'avons aucun renseignement, sur ce qui a pu arriver après cette date. Quoiqu'il en soit nous avons obtenu une prolongation d'au moins treize jours, délai énorme pour du virus fixe.

Malgré ces résultats nous ne croyons pas, pas plus dans cette série que dans la précédente, pouvoir rapporter l'état réfractaire du lapin de l'expérience XXXVI, plutôt aux cerveaux du début de la série qu'à ceux de la fin. Il nous suffit de pouvoir conclure que ceux du début n'y sont sûrement pas étrangers. Les expériences suivantes nous démontreront en effet qu'ils peuvent à eux seuls déterminer un certain degré d'immunisation.

Enfin si à un autre point de vue, nous comparons les résultats de ces deux séries, nous voyons que la voie péritonéale paraît plus efficace que la voie sous-cutanée, pour faire naître un certain degré d'immunité centre le virus fixe par trépanation, grâce à l'inoculation de cerveaux *à peine atténués.*

Nous pouvons enfin nous demander si un cerveau viru-

lent et légèrement modifié, donné en inoculation sous cutanée, au début des paralysies, ne pourrait pas les prolonger.

EXPÉRIENCE XLI (7 juin 1900)

Un lapin trépané présente des phénomènes de paralysies rabiques le 7 juin. On lui inocule ce même jour une dose massive de 20 c.c. d'émulsion d'un cerveau du 9 novembre 1899 (huit jours). Il reçoit quotidiennement la même dose les 8, 9 et 10 juin, il meurt le 11. Les phénoménes paralytiques ont duré six jours, il semble par conséquent qu'il y ait eu une légère prolongation car ils ne durent généralement pas plus de trois ou quatre jours.

Pour nous assurer s'il y aurait eu quelque modification dans l'état de ses centres au point de vue de leur virulence, nous faisons l'inoculation de son cerveau à un autre lapin par trépanation, mais il est paralysé et meurt dans le délai normal.

Voyons enfin si un cerveau encore virulent mais plus profondément atténué par la glycérine nous donnerait en inoculation sous-cutanée plus de succès que les cerveaux déjà employés.

EXPÉRIENCE XLII (15 mai 1900)

Quatre lapins reçoivent du 16 au 28 mai, dix inoculations sous-cutanées de 6 c.c. d'un cerveau du 4 août (incub. dix jours).

Ils sont trépanés avec du virus fixe frais le 29 mai.

Premier lapin est trouvé mort le 3 juin tué sans doute par ses congénères.

Deuxième lapin paralysé le 4 juin, mort le 6 juin.
Troisième — — 5 — — 7 —
Quatrième — — 6 — — 7 —

Nous voyons donc les trois lapins ayant atteint la fin de la période d'incubation, manifester des paralysies rabiques, respectivement après les sixième, septième et huitième jour. Par conséquent, ils n'ont reçu aucun bénéfice des inoculations préventives d'un cerveau atténué par la glycérine, contre l'inoculation virulente par trépanation.

EXPÉRIENCE XLIII (9 mai 1900).

Trois lapins, reçoivent du 8 mai au 14, sept injections sous-cutanées de 6 c.c. d'émulsion d'un cerveau vieux du 24 novembre 1898.

Ils sont inoculés avec du virus fixe frais dans la dure mère parès trépanation le 15 mai,

Et reçoivent encore du 15 au 22 mai, sept inoculations sous-cutanées de 6 c.c. d'émulsion du cerveau du 24 Novembre 1898.

Premier lapin meurt le 18 mai couvert d'abcès surtout au niveau du train postérieur. Ces abcès ne coïncident pas avec les points d'inoculation, ils se sont produits à la suite des nombreuses morsures de ses congénères.

Deuxième lapin, paralysé le 21 mai,
meurt de rage le 23 —
Troisième lapin, paralysé le 22 —
meurt de rage le 23 —

Ici encore nous voyons nos lapins d'expérience présenter les phénomènes caractéristiques de la rage après une incubation de six et sept jours.

C'est ici le cas de faire remarquer que l'essai d'immunisation de ces lapins a été fait avec un cerveau dont l'histoire mérite d'être rappelée. Après une durée d'immersion de dix-sept mois seize jours en glycérine, ce cerveau inoculé par trépanation à un lapin a donné lieu à

des symptômes paralytiques au onzième jour. Ces paralysies ont bientôt rétrocédé et après une guérison apparente de près de deux mois, les phènomènes paralytiques recommencent, et le lapin meurt de rage.

Ce cerveau avait donc été profondément modifié dans sa virulence par son séjour en glycérine. et cependant il ne nous fournit pas un seul succès vis-à-vis du virus fixe inoculé par trépanation. Ce fait ne doit pas trop nous surprendre car nous allons voir dans les expériences qui suivent, que tous les essais d'immunisation, se sont montrés continuellement inefficaces vis-à-vis de l'épreuve sévère de la trépanation avec du virus fixe

En somme dans cette première partie consacrée aux essais d'immunisation par les cerveaux plus ou moins virulents, contre la trépanation avec le virus fixe, nous voyons que la voie sous-cutanée ne nous a donné qu'une prolongation notable de l'incubation, (huit jours.)

La voie intra-péritonéale s'est montrée plus efficace. Si dans plusieurs cas elle n'a donné aucun résultat, en revanche elle nous a donné une survie avec les cerveaux en série, et une prolongation d'au moins quinze jours avec un cerveau employé seul.

Essais d'immunisation contre le virus fixe avec des cerveaux non virulents

Nous venons de voir dans ces quelques expériences comment se comportaient des cerveaux encore virulents administrés par diverses voies, vis-à-vis du virus fixe administré par trépanation, voyons maintenant quel sera l'effet des cerveaux entièrement dépourvus de virulence vis-à-vis de ce même virus fixe.

Dans cette deuxième partie, nous exposerons en premier lieu les expériences, où les inoculations ont été faites pré-

ventivement, puis celles où elles ont été faites seulement pendant l'incubation. Dans chacun de ces paragraphes nous envisagerons le cas d'inoculations immunisantes par diverses voies (sous-cutanée, intra-péritonéale, intra-durale) vis-à-vis de l'infection par des voies multiples (sous-cutanée, intra-durale, intra-oculaire).

INOCULATION PRÉVENTIVE PAR DES INJECTIONS SOUS-CUTANÉES

(1) *A l'égard de l'Epreuve par inoculations sous-cutanées multiples*

EXPÉRIENCE XLIV (10 mars 1900)

Quatre lapins reçoivent du 14 au 24 mars, dix inoculations sous-cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau vieux du 22 février 1899.

Ils reçoivent, en outre, du 24 au 29 mars, six inoculations sous-cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau de virus fixe frais.

Le premier lapin meurt le 19 mars avant la fin de l'expérience, d'accidents intestinaux.

Le deuxième lapin meurt le 4 avril avant la fin de la période d'incubation, encore d'accidents intestinaux.

Le troisième lapin se porte très bien à la fin juin.

Le quatrième lapin se porte très bien à la fin juin.

Pour pouvoir tirer une conclusion de cette expérience, il était nécessaire de savoir l'effet que produiraient sur des lapins de même poids et de même provenance, des injections sous-cutanées de virus fixe, en dehors de toute immunisation. C'est le but de l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE XLV (27 mars 1900)

Trois lapins reçoivent du 27 mars au 2 avril, six inoculations sous-cutanées de virus fixe frais.

Un lapin meurt le 7 avril sans paralysie. L'autopsie nous permet de découvrir un tampon d'herbe fraîche obturant la trachée. Le lapin est mort asphyxié.

Deuxième lapin, paralysé le 10 avril.
mort de rage le 13 —
Troisième lapin, paralysé le 15 —
mort de rage le 18 —

Ces deux lapins ont donc présenté des phénomènes rabiques après un délai respectivement égal à quatorze et dix-neuf jours comptés à partir de la première inoculation.

Mais d'autres expériences nous éclairent encore sur l'action du virus fixe donné en inoculations sous-cutanées.

EXPÉRIENCE XLVI (14 janvier 1900)

Cinq lapins reçoivent du 12 au 25 janvier, dix inoculations sous-cutanées de virus fixe frais.

Premier lapin, meurt accidentellement le 21 janvier.
Deuxième lapin, paralysé le 23 — (11 j.)
meurt de rage le 25 —
Troisième lapin, paralysé le 24 — (12 j.)
meurt de rage le 26 —
Quatrième lapin, paralysé le 25 — (13 j.)
meurt de rage le 27 —
Cinquième lapin, paralysé le 27 — (15 j.)
meurt de rage le 29 —

Par conséqueut, nos quatre lapins ayant succombé à la rage ont présenté une période d'incubation de onze à quinze jours à partir de la première inoculation. Ces résultats concordent par conséquent avec ceux de l'expérience précédente, où les lapins ont été paralysés après des incubations de quatorze et dix-neuf jours.

Mais nous savons qu'un certain nombre d'auteurs ont signalé des faits dans lesquels une inoculation massive de matière rabique fixe déterminait un état réfractaire chez le chien vis-à-vis de ce même virus fixe. Nous devons, par conséquent, nous demander si de multiples inoculations de virus fixe, chez le lapin, n'agiraient pas comme une dose massive chez le chien pour déterminer un certain état réfractaire, c'est-à-dire une prolongation d'incubation. C'est pour répondre à cette question que nous citons l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE XLVII (10 février 1900)

Un lapin reçoit sous la peau une seule inoculation de virus fixe le 10 février, les phénomènes paralytiques apparaissent le 20 février, le lapin meurt de rage le 28.

Nous avons donc avec une seule inoculation sous cutanée une incubation de dix jours. Par conséquent il semble bien que les multiples inoculations des deux expériences précédentes aient agi pour prolonger la période d'incubation.

Si maintenant nous comparons les résultats de ces trois expériences, nous obtenons pour sept lapins des incubations respectives de dix, onze, douze, treize, quatorze, dix-neuf jours, et nous pouvons conclure que dans le cas d'inoculation de virus fixe sous la peau, la rage se manifeste dans nos expériences après une période moyenne de treize jours.

Rapprochons ces conclusions des résultats de l'expérience XLV et nous verrons que nos lapins simplement inoculés sous la peau avec du virus fixe, présentent les phénomènes caractéristiques de la rage après une période moyenne de de treize jours comptés depuis la première inoculation tandis que les lapins traités préventivement selon notre méthode, sont vivants et bien portants trois mois après. Par

conséquent nous considérons les deux lapins vivants à la fin juin comme *rendus refractaires* à la rage de virus fixe.

2) *A l'égard de l'épreuve par trepanation.*

EXPÉRIENCE XLVIII (12 janvier 1900).

Un lapin reçoit du 12 au 27 janvier onze inoculations sous cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau vieux du 10 décembre 1898 (non virulent).

Il reçoit le 30 janvier en injection itra durale après trépanation quelques gouttes d'émulsion d'un cerveau de virus fixe frais

Paralysé le 7 février (incubation huit jours)
Mort de rage le 10 —

EXPÉRIENCE XLIX (13 février 1900)

Trois lapins reçoivent du 13 février au 1er mars douze inoculations sous cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau vieux du 28 janvier 1899.

Ils reçoivent en outre par trapanation 1/2 cc. d'émulsion d'un cerveau de virus fixe frais le 2 mars.

Premier lapin,	paralysé	le 8	mars	
meurt	de rage	le 10	—	(6 j.)
Deuxième lapin,	paralysé	le 9	—	
meurt	de rage	le 11	—	(7 j.)
Troisième lapin,	paralysé	le 9	—	
meurt	de rage	le 11	—	(7 j.)

Des résultats de ces deux expériences il ressort que des injections sous cutanées multiples de cerveaux vieillis en glycérine selon notre méthode, et données préventivement présentent un effet vaccinal à peine appréciable, vis à vis

du virus fixe inoculé directement dans l'encéphale chez le lapin.

Voyons si le chien qui, plus facilement que le lapin, devient réfractaire à la rage nous donnerait un meilleur résultat :

EXPÉRIENCE L (21 mars 1901)

Un chien reçoit du 21 mars au 3 avril quinze inoculations sous cutanées d'un cerveau du 14 mai 1900.

Il est inoculé le 3 avril dans la chambre antérieure de l'œil avec quelques gouttes d'une émulsion de virus fixe. Nous avons choisi la voie intra-oculaire à cause d'abord de la difficulté de la trépanation chez le chien, et aussi parce que nous considérons cette voie d'inoculation comme aussi efficace chez le chien, que la trépanation chez le lapin,

Les symptômes de la rage se manifestent chez lui le 10 avril après une incubation de six jours, et le chien meurt de rage furieuse le 12.

Par conséquent nous n'avons pas eu plus de succès qu'à l'égard de la trépanation chez le lapin.

Inoculation Préventive par des injections Intra Péritonéales.

1) A l'égard de l'épreuve par inoculations sous cutanées multiples.

EXPÉRIENCE LI (26 mai 1900)

Six lapins reçoivent du 26 mai au 5 juin douze inoculations intra péritonéales de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau vieux du 11 novembre 1897.

Ils reçoivent en outre du 6 au 9 juin quatre inoculations sous-cutanées de 3 cc. d'émulsion de virus fixe frais du 4 juin.

Premier lapin meurt sans phénomènes rabiques le 31 mai avant la fin de la vaccination.

Deuxième lapin se porte très bien le 10 juillet
Troisième lapin se porte très bien le 10 juillet
Quatrième lapin se porte très bien le 10 juillet
Cinquième lapin se porte très bien le 10 juillet
Sixième lapin se porte très bien le 10 juillet

Pour pouvoir apprécier les résultats de cette expérience il faut encore nous reporter aux quelques expériences précédentes. Nous venons de voir en effet sept lapins inoculés sous la peau avec du virus fixe présenter des manifestations rabiques dans un délai moyen de treize jours après la première inoculation, et mourir dans l'espace de quelques jours.

Dans celle-ci nous voyons cinq lapins vaccinés préventivement selon notre méthode par la voie péritonale, ne présenter encore aucun symptôme de rage un mois après l'inoculation.

Ils ont donc manifesté une prolongation de la période d'incubation d'au moins dix-sept jours, délai énorme quand il s'agit de virus fixe inoculé par trépanation.

(2) *A l'égard de l'épreuve par trépanation.*

EXPÉRIENCE LII (13 Janv. 1900)

Deux lapins reçoivent du 12 au 27 janvier, onze inoculations intra péritonéales de trois c.c. d'émulsion d'un cerveau vieux du 1er octobre 1898.

Ils reçoivent en outre le 30 janvier quelques gouttes d'émulsion de virus fixe frais dans l'encéphale.

Premier lapin	paralysé le 6 Février 1900	(7 j.)
	mort de rage le 8 — —	
Deuxième lapin	paralysé le 7 — —	(8 j.)
	mort de rage le 10 — —	

La conclusion de cette expérience est facile à tirer. C'est que les inoculations intra péritonales de cerveaux atténués selon notre méthode, données préventivement, ne présentent aucun effet vaccinal vis-à-vis du virus fixe donné en innoculation intra crânienne. Il est intéressant de rapprocher ces conclusions de celles que nous ont fournies les expériences XXXX et XXXIX. De ce rapprochement nous pouvons conclure que la vaccination préventive selon notre méthode par diverses voies, est entièrement dépourvue d'effets vis-à-vis de la trépanation par le virus fixe.

L'expérience suivante va cependant nous faire modifier légèrement ces conclusions.

EXPÉRIENCE LIII (26 mai 1900)

Cinq lapins reçoivent du 26 mai au 5 juin douze inoculations intra péritonéales de trois c. c. d'émulsion d'un cerveau vieux du 9 novembre 1897, et quelques gouttes d'émulsion de virus fixe dans la dure mère après trépanation le 6 juin.

Premier lapin	paralysé le 13 juin	(7 j.)
	meurt de rage le 14 —	
Deuxième lapin	paralysé le 13 —	(7 j.)
	meurt de rage le 14 —	
Troisième lapin	paralysé le 13 —	(7 j.)
	meurt de rage le 15 —	
Quatrième lapin	paralysé le 13 —	(7 j.)
	meurt de rage le 15 —	

Cinquième lapin résiste. Il meurt d'hémorragie en mettant bas plusieurs petits lapins le 9 juillet.

Ici par conséquent nous avons à signaler une survie. Ce qui nous autorise à dire que, à titre d'exception nous voyons des lapins vaccinés d'après notre méthode par la voie péritonéale résister à l'épreuve sévère de la trépanation avec du virus fixe. Encore devons-nous faire remarquer que ce lapin était beaucoup plus gros que les autres, et qu'il avait reçu quelques mois auparavant une injection de substance nerveuse normale dans la dure mère après trépanation. Aurait-il acquis de ce fait une certaine immunité? Des expériences faites au laboratoire de Montpellier et encore inédites, nous permettent d'affirmer que non.

Inoculation préventive par trépanation vis-a-vis de l'inoculation de virus fixe par trépanation

EXPÉRIENCE LIV (28 septembre 1898)

Un lapin reçoit par trépanation quelques gouttes d'émulsion d'un cerveau de virus fixe conservé en glycérine depuis le 9 novembre 1897. Ce lapin est suivi pendant un mois, et ne manifeste aucun symptôme rabique, on en conclut à la non virulence du cerveau, et pour tâter la susceptibilité du lapin d'épreuve à la rage, on l'inocule par trépanation une deuxième fois, avec du virus fixe le 24 octobre 1898.

Les paralysies se déclarent le 31 octobre, c'est à-dire au septième jour d'incubation, le lapin meurt le 4 novembre.

Le résultat est donc entièrement négatif.

EXPÉRIENCE LV (29 septembre 1898)

Un lapin est inoculé de la même façon avec un cerveau du 4 juillet 1898.

Après un mois il n'a manifesté aucun symptôme rabique et on l'inocule par trépanation avec du virus fixe le 21 octobre 1898.

Les paralysies se déclarent de même le 31 octobre, c'est-à-dire après sept jours d'incubation. Le lapin meurt le 4 novembre.

Par conséquent ces deux expériences nous permettent de conclure qu'une inoculation préventive de matière rabique non virulente, dans la dure mère n'a aucun effet immunisant vis-à-vis de l'inoculation de virus fixe par la même voie. *Il n'y a* pas lieu de supposer en effet que l'immunité de ce lapin eut cessé après un mois, car nous montrerons dans le chapitre suivant que l'immunité acquise, se maintient pendant un délai supérieur à un mois.

INOCULATION APRÈS L'INFECTION PAR INJECTIONS SOUS-CUTANÉES MULTIPLES

1) *A l'égard de l'épreuve par injections intra durales.*

EXPÉRIENCE LVI (8 mai 1900)

Trois lapins reçoivent le 8 mai en injection intra-durale 1/2 cent. cube de virus fixe frais.

Ils reçoivent en plus à partir du 8 jusqu'au 17 mai, huit injections sous-cutanées de 6 centimètres cubes d'émulsion d'un cerveau vieux du 19 décembre 1898.

Premier lapin, . . paralysé le 15 mai.
meurt de rage le 16 —

Deuxième lapin, paralysé le 15 mai
meurt de rage le 17 —
Troisième lapin, paralysé le 17 —
meurt de rage le 20 —

EXPÉRIENCE LVII (12 décembre 1900)

Deux lapins sont trépanés le 12 décembre avec 1/2 cent. cube de virus fixe.

Ils reçoivent du 13 au 21 décembre, huit injections sous-cutanées de 3 cent. cubes d'émulsion d'un cerveau vieux du 7 janvier 1900.

Premier lapin, paralysé le 13 décembre.
meurt de rage le 21 —
Deuxième lapin, paralysé le 18 —
meurt de rage le 21 —

Rappelons les résultats des deux expériences précédentes et il nous sera facile de constater l'inefficacité de notre méthode appliquée pendant la période d'incubation, après injection intra durale de virus fixe par trépanation.

Ces résultats nous permettent de prévoir l'inefficacité de la vaccination en période de rage déclarée, après trépanation avec du virus fixe. C'est ce que l'expérience suivante va nous démontrer.

EXPÉRIENCE LVIII (5 janvier 1901)

Deux lapins sont trépanés avec du virus fixe, et les phénomènes paralytiques apparaissent le 22 janvier. Ils reçoivent à partir de ce jour et jusqu'à leur mort, 6 cent. cubes d'émulsion du cerveau du 7 janvier 1900, en injections sous-cutanées quotidiennes.

Le premier lapin meurt le 23.
Le deuxième lapin meurt le 25.

Il n'y a donc pas eu de prolongation de la période paralytique.

En somme nous voyons par l'ensemble des résultats que nos essais d'immunisation *contre le virus fixe*, réalisés dans diverses conditions, sur 21 lapins soumis à l'épreuve sévère de l'inoculation par *trépanation*, ont été le plus souvent infructueux.

Nous considérons comme très exceptionnel le fait de la survie obtenue dans l'expérience LIII, car il est très possible qu'indépendamment de l'effet immunisant de nos injections préventives, d'autres causes soit intervenues, pour atténuer l'effet de l'inoculation. Nous savons qu'on a signalé très exceptionnellement quelques cas de lapins réfractaires à la rage même du virus fixe par trépanation ; peut-être étions-nous en présence d'un cas de ce genre. Cependant nous devons tenir compte de ce fait que ce lapin avait été inoculé par la voie péritonéale, qui dans la première partie de ce chapitre consacrée à la vaccination par des cerveaux virulents, nous avait fourni deux cas analogues.

Mais le fait le plus important de cette deuxième partie, c'est le succès constant de notre méthode vis-à-vis du virus fixe quand celui-ci est administré par la voie sous-cutanée.

Sur deux lapins ainsi inoculés, et préventivement immunisés par la voie sous-cutanée nous avons obtenu deux survies, car ces lapins ont été suivis pendant plus de trois mois, période que nous considérons comme étant largement suffisante pour les manifestations de la rage de virus fixe, et n'ont jamais manifesté de symptômes rabiques.

Cinq autres lapins ont été inoculés de la même façon, et

traités par injection intra-péritonéale ; suivis pendant plus d'un mois ces animaux n'ont jamais manifesté de symptômes rabiques.

Nous croyons que ces faits méritent d'attirer l'attention au point de vue de l'application pratique de cette méthode ; Nous abordons ici en effet le domaine clinique, encore que, dans la rage clinique, nous n'avons à faire qu'à du virus des rues, tandis que nous avons immunisé ici contre le virus fixe. Nous allons maintenant étudier dans un chapitre spécial l'action de nos cerveaux non virulents sur le virus de la rage des rues.

CHAPITRE IV

Essais d'immunisation contre le virus de la rage des rues, avec des cerveaux non-virulents

Ce groupe d'expériences différant très peu de celles qui font l'objet du chapitre précédent, nous les exposerons dans un ordre à peu près identique.

VACCINATION AVANT L'INFECTION PAR DES INJECTIONS SOUS-CUTANÉES MULTIPLES

A) *A l'égard de l'épreuve par injection de virus des rues dans la dure mère après trépanation.*

EXPÉRIENCE LIX (8 avril 1900)

Six lapins reçoivent du 9 au 18 avril, huit inoculations sous-cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau du 6 septembre 1898.

Premier et deuxième lapins meurent le 18 et 25 avril avant la trépanation, sans phénomènes rabiques. A l'autopsie nous trouvons les poumons légèrement congestionés l'intestin fortement distendu par des gaz. Quelques jours avant leur mort on avait remarqué que ces lapins avaient de la dyssenterie.

Les quatre lapins restants sont trépanés le 28 avril avec de la rage des rues.

Troisième, quatrième et cinquième lapins sont trépanés avec un cerveau de chien de Montpellier.

Le troisième lapin meurt le 12 mai avec symptômes dyssentériques ;

Le quatrième meurt le 26 mai sans paralysie, encore d'accident gastro-intestinaux ;

Le cinquième paralysé le 6 juin, meurt de rage le 8 juin.

Le sixième lapin trépané avec un cerveau de chien de Prades, paralysé le 16 mai, meurt de rage le 17 mai.

Deux lapins sont adjoints à l'expérience précédente comme témoins pour éprouver le degré de virulence des cerveaux de chien employés.

Le 18 avril on inocule à un lapin témoin dans les centre nerveux 1/2 cc. d'émulsion du cerveau du chien des rues de Montpellier.

Paralysé le 4 mai 1900.
Meurt le 6 — —

Premier lapin témoin. — Période d'incubation a donc été de seize jours.

Le 12 mai on inocule à un deuxième lapin témoin dans les centres nerveux 1/2 cc. d'émulsion du cerveau du chien des rues de Prades.

Paralysie le 29 mai 1900.
Mort le 31 — —

Deuxième lapin témoin. — La période d'incubation pour le cerveau des rues de Prades est de dix sept jours.

Par conséquent dans cette expérience la période d'incubation expirait pour les quatrième et cinquième lapins le 14 mai, pour le sixième le 15 mai. Or nous voyons le quatrième mourir d'une maladie intercurrente le 26 mai.

Le cinquième de rage le 6 juin.

Le sixième de rage le 16 mai.

Nous avons donc obtenu sur trois lapins vivants à la fin de la période d'incubation, une prolongation d'au moins douze jours pour le quatrième lapin, une prolongation de

vingt jours pour le cinquième lapin, une prolongation, d'un seul jour pour le sixième lapin.

EXPÉRIENCE LX (2 février 1091)

Quatre lapins reçoivent du 2 au 16 février, onze inoculations sous-cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau du 7 janvier 1900, le 20 février ils reçoivent après trépanation 1/2 cc. d'émulsion d'un cerveau de chien des rues du 20 janvier 1901.

Premier lapin meurt avant la trépanation ;

Deuxième lapin meurt le 1er avril ;

Troisième lapin meurt le 2 avril ;

Quatrième lapin meurt le 2 avril ; ces trois derniers sans paralysie, d'accidents intestinaux dyssentériformes qui sévissent à ce moment, sous forme épidémique.

Un lapin témoin est adjoint à cette expérience pour déterminer le degré de virulence du cerveau des rues employé.

Le 31 janvier on inocule à ce lapin dans les centres nerveux 1/2 c.c. d'émulsion du cerveau des rues du 20 janvier.

Paralysie le 15 février.
meurt de rage le 17 —

Par conséquent le degré de la virulence de ce cerveau mesuré par sa période d'incubation est de quinze jours.

De ce fait nous avons obtenu dans l'expérience précédente sur trois lapins trépanés, une prolongation d'incubation d'au moins vingt-six jours pour le deuxième, une prolongation d'incubation d'au moins vingt-sept jours pous les troisième et quatrième.

Remarquons que ces animaux un mois et demi après la trépanation ne sont pas morts de rage, et nous aurons le droit de nous demander si, ce que nous venons d'appeler

prolongation d'incubation, ne mériterait pas en réalité de figurer comme survie.

Voyons maintenant si le nombre d'inoculations paraît avoir quelque influence sur le développement de cette immunité partielle.

EXPÉRIENCE LXI (13 août 1901)

Quatre lapins sont traités à partir du 12 août par des inoculations sous-cutanées de 3 c.c. d'émulsion d'un cerveau du 4 juin 1900.

Ils reçoivent du 12 au 18 août six inoculations.

Deux d'entre eux reçoivent en plus trois inoculations le 28, 29 et 30 août. Ils reçoivent le 30 août par trépanation 1/2 c.c. d'émulsion de cerveau de rage des rues provenant du chien de l'expérience ci-après qui est mort de rage le 14 août. Nous n'avons pas pris de témoin pour vérifier le degré de virulence de ce cerveau vis-à-vis du lapin. Mais en admettant que nos inoculations immunisantes n'ont eu aucun effet sur le troisième lapin qui a été le premier paralysé, nous voyons que certainement cette virulence était au moins égale, sinon inférieure à vingt-cinq jours. Il est même probable que nous sommes retombés d'emblée sur une virulence de quinze à vingt jours.

Six inoculations (Incubation vingt-huit jours.)

Premier lapin paralysé le 27 septembre 1901, mort de rage le 30 septembre 1901.

Deuxième lapin encore vivant le 1er janvier 1902;

Neuf inoculations (Incubation vingt-six jours.)

Troisième lapin paralysé le 25 septembre 1901, mort de rage le 27 septembre 1902;

Quatrième lapin encore vivant le 1er janvier 1902.

En comptant pour ce cerveau des rues une virulence de vingt jours nous voyons que la période d'incubation finissait pour les quatre lapins le 19 septembre. Nous avons par conséquent obtenu pour le premier une prolongation de huit jours, pour le deuxième une survie, pour le troisième une prolongation de six jours et pour le quatrième une survie.

Ces résultats à peu près semblables ne nous permettent pas de conclure que deux ou trois inoculations de plus, puissent avoir une influence notoire sur le développement de l'immunité vis-à-vis de la rage des rues.

Si nous comparons maintenant les trois dernières expériences :

6 inoculations. (Expérience 13 août 1901).
8 inoculations. (Expérience 8 avril 1900).
9 inoculations. (Expérience 13 août 1901).
11 inoculations. (Expérience 2 février 1901).

Nous voyons que six inoculations d'après notre méthode peuvent suffire à produire l'effet desiré, et que un nombre presque double (onze) ne donne pas un surcroit de succès, en rapport avec l'augmentation du nombre des inoculations. Dans le cours de nos expériences nous avons constamment opéré avec un nombre d'inoculations variant de neuf à onze, et nous n'avons jamais remarqué dans nos résultats des variations pouvant s'expliquer par le nombre plus ou moins élevé d'inoculations.

Ces succès partiels constants chez le lapin, qui est très difficilement rendu réfractaire à la rage, probablement à cause de sa très grande réceptivité pour ce virus connue depuis Galtier et exploitée par Pasteur, et peut-être aussi la perspective de l'application possible à l'homme de notre méthode, nous ont poussé à répéter ces expériences *chez*

le chien dont la réceptivité est d'après Pasteur moindre que celle du lapin, et se rapproche beaucoup de celle de l'homme.

EXPÉRIENCE LXII (2 mars 1901)

Un chien reçoit du 21 mars au 3 avril, onze inoculations sous-cutanées de 3 c.c. d'émulsion d'un cerveau du 14 mai 1900.

Il reçoit en outre le 3 avril 1/2 c.c. d'émulsion d'un cerveau frais de rage des rues dans la chambre antérieure de l'œil gauche, selon la pratique des laboratoires.

Un lapin témoin devant servir à vérifier le degré de virulence du cerveau des rues employé, est trépané le 11 avril, paralysé le 30 et meurt le 31.

Par conséquent le cerveau des rues avait une virulence de dix-neuf jours pour le lapin.

Le chien inoculé le 3 avril s'il n'avait pas été traité aurait dû succomber à la rage dans les derniers jours du même mois. Il a été très régulièrement suivi pendant trois mois et demi, et n'a jamais présenté de symptômes rabiques.

Nous en avons conclu que nos inoculations antérieures lui avait conféré une immunité solide, et nous nous sommes demandé quelle pourrait être la durée de cet état. L'animal ainsi vacciné serait-il désormais réfractaire à la rage, ou bien cette immunité irait-elle progressivement en diminuant jusqu'à disparition complète ?

Pour résoudre ces questions, nous avons fait une *nouvelle inoculation* de rage des rues dans l'œil le 19 juillet 1901.

Le lapin ayant fourni le cerveau, des rues employé avait été trépané le 10 juin, les paralysies s'étaient déclarées le 16 juillet, et la mort était survenue le 19 juillet. Par conséquent ce cerveau avait une virulence de vingt jours.

Néanmoins le chien en expérience n'a subi aucun dommage de cette nouvelle inoculation, et six mois après il n'a encore jamais manifesté de symptômes rabiques.

Par conséquent il n'est pas douteux que l'état réfractaire acquis par l'animal du fait des inoculations préventives, ne se fût maintenu entier jusqu'au mois d'août (fin de la période d'incubation de la deuxième inoculation virulente), c'est-à-dire quatre mois après la fin des inoculations.

Ce chien actuellement conservé au laboratoire recevra à des intervalles de temps variables, de nouvelles inoculations de rage des rues, qui permettront de résoudre ultérieurement, la question de la conservation indéfinie de l'état d'immunité, ou de sa disparition.

EXPÉRIENCE LXIII (31 mai 1901)

Deux chiens reçoivent du 31 mai au 7 juin six inoculations sous cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau du 22 novembre 1899.

Le premier chien reçoit encore des inoculations jusqu'au 13 juin ce qui fait en tout onze inoculations.

Le second chien atteint de gale est délaissé dès le 7 juin.

Le 24 juin inoculation dans la chambre antérieure de l'œil gauche de virus des rues, au *premier chien* seulement.

Ce chien a des allures inquiétantes dès le 8 août ; la rage devient manifeste le 10, et il meurt le 14 de rage furieuse. Incubation cinquante jours.

Le lapin qui avait fourni le cerveau des rues employé avait été trépané le 29 mai, paralysé le 19 juin il est mort le 21, après une incubation de vingt-un jours.

Par conséquent nous n'avons eu dans ce cas qu'un retard dans l'apparition des phénomènes rabiques, c'est-à-dire un léger degré d'immunisation.

Le 19 juillet les lésions cutanées, semblant s'atténuer nous faisons au *deuxième chien* une inoculation de rage des rues dans la chambre antérieure de lœil gauche.

Le cerveau des rues employé avait manifesté une incubade vingt jours pour le lapin.

Mais les lésions de la galle progressent, et le chien en expériences meurt cachectique, et couvert d'ulcérations le 14 août sans jamais avoir présenté de symptômes rabiques.

Il est mort par conséquent vingt-cinq jours après l'inoculation, c'est-à-dire dans un laps de temps suffisant pour que nous puissions conclure que la rage avait été au moins retardée.

Par conséquent nous pouvons admettre chez ce chien au moins un certain degré d'état réfractaire à la rage, dû à un très petit nombre (6) d'inoculations, dont ladernière remonte à quarante-deux jours.

EXPÉRIENCE LXIV (26 novembre 1900)

Dans cette expérience nous avons voulu nous rendre compte si plusieurs séries d'inoculations faites à quelque intervalle l'une de l'autre, en donnant le temps à la matière rabique vaccinante de produire son effet c'est-à-dire de se localiser dans le système nerveux et les centres, ne nous donneraient pas de meilleurs résultats.

A cet effet cinq lapins reçoivent du 26 novembre au 8 décembre *une première série* de dix inoculations sous-cutanées de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau du 7 janvier 1900.

Nous les laissons reposer du 8 décembre au 17 décembre c'est-à-dire neuf jours et nous leur faisons subir *une deuxième série* de cinq inoculations du 17 au 21 décembre avec 3 cc. d'émulsion du même cerveau.

Ils reçoivent le 22 décembre 1900 après trépanation, 1/2

cc. d'émulsion d'un cerveau de chien des rues de Béziers, dans la dure mère.

Premier lapin cesse de manger dès le 3 décembre il maigrit rapidement, et meurt sans symptômes rabiques le 8 décembre.

Deuxième lapin est trouvé mort le 30 décembre il portait des traces de morsures profondes. Il avait été tué par ses congénères.

Troisième lapin paralysé le 27 janvier 1901, meurt de rage le 29 janvier 1901. (Incubation trent-six jours).

Quatrième lapin paralysé le 10 février 1901 meurt de rage le 12 février 1901. (Incubation quarante neuf jours).

Cinquième lapin meurt de dyssenterie le 2 avril sans jamais avoir présenté de symptômes rabiques.

Le lapin témoin devant servir à déterminer le degré de virulence du cerveau des rues du chien de Béziers employé, est trépané et inoculé le 19 décembre 1900, paralysé le 6 janvier 1901, et meurt de rage le 8 janvier 1901. La période d'incubation a donc été de dix-sept jours.

Par conséquent dans l'expérience précédente sur trois lapins ayant atteint la fin de période d'incubation c'est-à-dire le 9 janvier, nous avons à noter une prolongation d'incubation de dix-huit jours pour le troisième lapin, une prolongation d'incubation de trente un jours pour le quatrième lapin ; une survie pour le cinquième lapin.

Ces résultats n'étant pas supérieurs à ceux des expériences précédentes nous ne nous croyons pas autorisés à conclure que deux séries d'inoculations de virus vieux faites avec le même cerveau, et séparées par un léger intervalle de repos, agissent d'une façon plus efficace au point de vue vaccinal qu'une seule série d'inoculations, toutes les autres conditions expérimentales étant les mêmes.

PAR DES INJECTIONS INTRA PÉRITONÉALES
DE CERVEAU VIEUX

B) *A l'égard de l'épreuve par injection de virus des rues dans la dure mère.*

EXPÉRIENCE LXV (4 février 1901)

Quatre lapins reçoivent du 2 au 16 février, onze inoculations intra péritonéales de 3 cc. d'émulsion de cerveau du 7 janvier 1900, le 20 février après trépanation on injecte dans la dure mère 1/2 cc. d'émulsion d'un cerveau de virus des rues du 20 janvier 1901.

Premier lapin meurt au début de l'expérience le 5 février.

Deuxième lapin paralysé le 7 mars meurt de rage le 10 mars. (Incubation quinze jours).

Troisième lapin paralysé le 10 mars meurt de rage le 12 mars. (Incubation dix-huit jours.)

Quatrième lapin paralysé le 25 avril meurt de rage le 26 avril. (Incubation soixante-quatre jours.)

Le lapin témoin pour mesurer le degré de virulence du cerveau du 20 janvier a été inoculé après trépanation le 31 janvier, paralysé le 15 février et meurt de rage le 16 février.

La période d'incubation a donc été de quinze jours.

Par conséquent, dans cette expérience sur trois lapins trépanés nous avons à noter :

Une mort sans prolongation d'incubation pour le premier lapin ;

Une prolongation d'incubation de trois jours pour le deuxième ;

Une prolongation d'incubation de quarante-neuf jours pour le troisième.

La vaccination préventive par notre méthode contre le virus des rues injecté directement dans les centres nerveux,

nous donne donc des prolongations d'incubation constantes. D'après nos expériences, la vaccination exécutée par la voie sous-cutanée nous paraît plus efficace que par la voie péritonéale.

VACCINATION APRÈS L'INFECTION

Mais rapprochons-nous du terrain clinique, et voyons ce que donnerait l'application de notre méthode après l'inoculation de la rage, c'est-à-dire dans le cours de la période d'incubation.

EXPÉRIENCE LXVI (1er février 1901)

Trois lapins reçoivent par trépanation le 1er février, 1/2 cc. d'émulsion de cerveau de chien des rues.

Et reçoivent, en outre, du 2 au 16 février, onze inoculations *sous-cutanées* de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau du 7 janvier 1900.

Premier lapin, paralysé le 18 février, meurt de rage le 20 (Incubation, dix-huit jours).

Deuxième lapin, paralysé le 6 mars, meurt de rage le 8 (Incubation, trente six jours).

Troisième lapin, meurt sans paralysie le 8 avril.

Un lapin témoin leur est adjoint pour vérifier le degré de virulence de ce cerveau des rues.

Il est trépané le 31 janvier.

Paralysé le 14 février.

Et meurt le 15 février.

Par conséquent, le degré de virulence de ce cerveau mesuré par sa période d'incubation est de quatorze jours.

Pour les lapins traités, cette période d'incubation prenait fin le 15 février.

La vaccination par la voie sous-cutanée d'après notre méthode, immédiatement au début de la période d'incubation nous donne donc un retard de trois jours, un de dix-neuf jours et une survie.

EXPÉRIENCE LXVII (3 février 1901)

Quatre lapins reçoivent par trépanation le 2 février 1/2 cc. d'émulsion d'un cerveau de rage des rues.

Ils reçoivent, en outre, du 2 au 16 février, onze inoculations *intra-péritonéales* de 3 cc. d'émulsion d'un cerveau du 6 janvier 1900.

Premier lapin, paralysé le 20 février, meurt de rage le 22 (Incubation, dix-huit jours).

Deuxième lapin, paralysé le 20 février, meurt de rage le 24 (Incubation, dix huit jours).

Troisième lapin, meurt d'accident le 1er mars.

Quatrième lapin, paralysé le 23 avril, meurt de rage le 25 (Incubation, cinquante jours).

Le cerveau des rues employé avait une virulence de quatorze jours.

Par conséquent, pour les lapins traités, la période d'incubation prenait fin le 16 février. Nous avons donc obtenu dans la vaccination par la voie intra-péritonéale, tout à fait au début de la période d'incubation, une prolongation de quatre jours, une deuxième prolongation de quatre jours, une prolongation d'au moins douze jours et une prolongation de trente-six jours.

Par conséquent, dans ces deux dernières expériences, la vaccination entreprise aussitôt après l'infection, s'est montrée partiellement efficace par diverses voies.

Pareillement à ce que nous avons observé dans nos essais de vaccination préventive, la voie sous-cutanée, dans

la vaccination après l'infection, nous donne plus de succès que la voie intra-péritonéale. Mais le contraire s'étant produit dans nos essais sur le virus fixe avec des cerveaux virulents, nous pensons que cela tient plutôt à la qualité du cerveau qu'à la valeur relative de la voie employée.

Il est bon de remarquer que ceci se rapporte seulement au cas où la vaccination est commencée dès le début de la période d'incubation. Nous allons voir, dans quelques expériences suivantes, les résultats de la vaccination commencée seulement au quinzième jour d'incubation, et même dès le début des phénomènes paralytiques.

EXPÉRIENCE LXVIII (22 Mai 1901)

Trois lapins reçoivent par trépanation, le 29 mai, 1/2 cc. d'émulsion d'un cerveau des rues frais. Le 30 mai, deux autres lapins sont inoculés par trépanation avec le même cerveau. Tous les cinq reçoivent du 13 au 19 juin, six inoculations sous-cutanées de 3 cc. d'un cerveau du 22 novembre 1899.

La vaccination a donc été commencée au quinzième jour pour les premiers, et au quatorzième jour pour les deux autres.

Premier lapin présente des troubles de l'équilibre dès le 12 juin. Cette titubation persiste jusqu'à sa mort, mais tandis qu'au début, elle paraissait parfaitement conforme aux paralysies rabiques que nous avons l'habitude d'observer, elle se modifie par la suite, et l'animal en progressant est toujours porté à faire la culbute en avant. Sa paralysie augmente le 28 août, le lapin tombe sur le flanc le 29 août et meurt le 30 août (Incubation quatre-vingt-huit jours).

L'autopsie, ni l'inoculation n'ont pu être faites ; mais nous avons pu observer l'animal dans les derniers moments

de la vie, et nous avons cru devoir conclure que nous nous trouvions un présence d'un cas de rage atypique. Nous n'avons observé ce fait qu'une seule fois et ne croyons pas qu'il ait été signalé. A ce titre nous nous croyons obligé de le souligner comme très exceptionnel.

Deuxième lapin paralysé le 21 juin, meurt de rage le 23 juin (Incubation, vingt-trois jours).

Troisième lapin paralysé le 11 août, meurt de rage le 13 août (Incubation, soixante-quatorze jours).

Quatrième lapin paralysé le 18 juin, meurt de rage le 20 juin (Incubation, dix-neuf jours).

Cinquième lapin paralysé le 18 juin, meurt de rage le 21 juin (Incubation, dix-neuf jours).

Trois lapins sont adjoints à cette expérience comme témoins pour éprouver le degré de virulence des cerveaux des rues employé.

Le 29 mai ces lapins sont inoculés par trépanation dans les mêmes conditions que les lapins, un, deux, trois de l'expérience, et nous observons les faits suivants.

Le premier lapin témoin est paralysé le 19 juin, meurt de rage le 21 juin (Incubation, vingt-un jours).

Le deuxième lapin témoin paralysé le 24 juin, meurt de rage le 26 juin (Incubation, vingt-six jours).

Le troisième lapin témoin paralysé le 15 juillet, meurt de rage le 17 juillet (Incubation, quarante-sept jours).

Par conséquent la période d'incubation a été respectivement de

21 jours pour le premier lapin témoin
26 jours pour le deuxième lapin —
47 jours pour le troisième lapin —

En présence de ces résultats si différents de ceux que nous observons habituellement, on est immédiatement porté

à se demander, pourquoi, pour un même cerveau, les trois lapins n'ont pas eu la même durée d'incubation.

Nous croyons pouvoir attribuer ce fait à la pauvreté de l'émulsion en éléments virulents. Quoique il en soit, nous sommes malheureusement tombés sur un cerveau qui s'est conduit d'une façon anormale et par suite difficile à apprécier.

Les quatrième et cinquième lapins ont présenté des phénomènes rabiques après une incubation de deux jours de moins que le lapin témoin. Mais si nous nous reportons au début de l'expérience nous verrons que ces deux lapins ont été trépanés et inoculés un jour après les autres, c'est-à-dire avec une *émulsion différente* du même cerveau. Il est probable que la parcelle de matière rabique employée ce jour-là, était plus riche en virus que celle de la veille.

Nous pensons que la virulence absolue de ce cerveau est exactement mesurée par la période d'incubation des deux derniers lapins, c'est-à-dire qu'elle est de dix-huit jours. Quant à la virulence de l'émulsion employée le 29 mai pour les premiers lapins et les témoins, elle serait, de vingt-trois jours et nous ne compterons comme prolongation d'incubation que celles du premier et du troisième lapin, qui sont de beaucoup supérieures à celle du lapin témoin le plus anormal.

Donc comme conclusion générale au point de vue de la vaccination, se dégageant de cette expérience, nous pouvons dire que par l'emploi de notre méthode, au quinzième jour de l'incubation, nous avons obtenu deux prolongation d'incubation.

Voyons maintenant si l'application de notre méthode après l'apparition des paralysies, donnerait une prolongation de la dernière période des manifestations rabiques.

EXPÉRIENCE LXIX (30 mai 1901)

Deux lapins sont trépanés avec du virus des rues.

Dès l'apparition des phénomènes paralytiques chez le premier lapin le 24 juin, on lui inocule en injection sous-cutanée trois c.c. d'émulsion d'un cerveau du 22 novembre 1899.

On répète la même opération le 25.

De même le 26, mais le lapin meurt ce jour-là, par conséquent sans modification de la période ultime de l'infection rabique,

On traite de même *dès l'apparition des phénomènes rabiques* le 15 juillet le second lapin. La même opération répétée le 16 et le 17 *ne retarde en rien* la mort de l'animal.

Un certain nombre d'expériences faites à des dates plus anciennes ne nous avaient également jamais donné de résultat positif :

EXPÉRIENCE LXX (19 janvier 1901)

Un lapin trépané avec du virus des rues, est *paralysé le* 9 février et reçoit ce jour-là 3 c.c. d'émulsion d'un cerveau du 7 janvier 1900.

De même le 10 et le 11 février, il meurt le 11 février 1901.

Les essais de vaccination par l'administration *de doses massives* d'émulsion, en période de rage déclarée n'ont pas donné plus de résultat que les petites doses:

EXPÉRIENCE LXXI (14 juin 1900)

Un lapin est trépané avec du virus des rues. Il est paralysé le 14 juin et reçoit en plusieurs injections sous-cutanées 20

c.c. d'émulsion d'un cerveau non virulent. Mais il meurt le 15 juin.

Par conséquent après trépanation avec le virus des rues, si on attend l'apparition des phénomènes rabiques pour l'application de notre méthode, on n'obtient aucun résultat.

Ceci n'a rien de surprenant et nous aurions pu le déduire du résultat négatif que nous avait donné la même tentative après trépanation avec du virus fixe. La rage des rues en effet, ne diffère du virus fixe dans ses effets, que par la durée de la période d'incubation ; une fois les phénomènes paralytiques rabiques déclarés, l'évolution est absolument identique, rien d'étonnant par conséquent, à ce que les résultats de notre traitement soient entièrement comparables dans les deux cas.

On a pu voir dans le détail de ces expériences sur la rage des rues, que l'infection a été réalisée continuellement par l'épreuve de la trépanation.

Notre désir eut été de nous placer le plus possible dans les conditions cliniques, c'est-à-dire de réaliser l'inoculation sous la peau et de faire des essais d'immunisation consécutive par la même voie.

Mais nous avons été continuellement arrêté par les difficultés qu'il y a à déterminer la rage, chez le lapin, en inoculant le virus des rues sous la peau.

Cependant si nous considérons les succès constants de notre méthode dans les expériences du même genre, faites avec le virus fixe, inoculé sous la peau ; si de plus nous nous rapportons aux succès partiels mais constants, que notre mode de traitement a donné contre le virus des rues, inoculé directement dans les centres nerveux, nous pourrons en déduire que ce traitement eût été fort probablement très efficace contre le virus des rues inoculé seulement sous la peau.

Pour tâcher de tourner la difficulté, nous avons inoculé quelques lapins avec de la rage des rues par une autre voie.

L'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil nous paraissait rationnelle, puisqu'elle avait très bien réussi chez le chien. Mais le résultat n'a pas répondu à notre espoir, car sur sept lapins inoculés ainsi, aucun n'a présenté de phénomènes rabiques, quoique quatre d'entre eux aient été suivis pendant près de cinq mois.

Par conséquent nous pouvons conclure avec Kraus que l'inoculation intra oculaire de la rage chez le lapin n'a qu'une efficacité très douteuse.

Nous allons enfin donner en dernier lieu un essai de vaccination avec le cerveau de l'expérience XXXI dont la virulence a été détruite par un séjour de soixante-six heures à l'étuve à 42° :

EXPÉRIENCE LXXII

Deux lapins reçoivent du 12 au 31 août dix inoculations sous-cutanées de 1 cc. d'émulsion d'un cerveau de virus fixe frais ayant séjourné soixante-six heures à l'étuve à 42°

Le 31 août ces deux lapins sont trépanés avec une émulsion du cerveau du chien de l'expérience LXIII mort le 14 août de la rage des rues.

Premier lapin paralysé le 6 novembre, meurt de rage le 8.

Deuxiéme lapin encore vivant et bien portant le 6 janvier.

En admettant pour ce cerveau des rues une virulence moyenne de dix-neuf jours, nous voyons que le premier lapin a eu une prolongation d'incubation de un mois et demi, chez le second c'est une survie que nous avons à noter, par conséquent ce dernier lapin est devenu entièrement réfractaire à la rage sous l'influence des quelques inoculations antérieures de cerveau non virulent,

Cette expérience nous montre que la chaleur pourrait très bien être utilisée, pour provoquer l'atténuation rapide de cerveaux immergés en glycérine, sans détruire leur pouvoir vaccinal.

Ce fait, qui théoriquement n'a qu'une portée restreinte, pourrait acquérir une bien plus grande importance, du jour où de nouvelles expériences confirmant et généralisant nos résultats, auraient fait rentrer cette méthode dans la pratique journalière.

En s'aidant de la chaleur il ne serait même plus nécessaire de vérifier le degré de virulence des cerveaux, il suffirait de déterminer une fois pour toutes, la durée du séjour à l'étuve, nécessaire pour enlever à la substance rabique en glycérine, sa virulence, sans annuler son pouvoir immunisant.

Nous voyons par l'ensemble de ces essais d'immunisation contre le virus des rues, par des cerveaux entièrement dépourvus de virulence, que nous avons réussi à déterminer à peu près sûrement un certain degré d'immunité chez des lapins et des chiens. Et, fait que nous considérons comme très important, nous n'avons toujours employé pour chaque série de lapins qu'un seul et même cerveau.

Dans un seul cas seulement nous n'avons pas eu de prolongation de la période d'incubation ; en revanche dans cinq cas, sur trente lapins en expérience, nous avons obtenu un état réfractaire total vis-à-vis de la rage des rues. Il est à remarquer que dans chacun de ces cinq cas, l'immunisation avait été tentée par la voie sous-cutanée. Sur quatre de ces lapins les injections immunisantes avaient précédé l'infection ; chez le cinquième, l'immunisation n'avait été faite que pendant la période d'incubation.

Cinq autres lapins d'expérience après une prolongation d'incubation respectivement égale à 12, 16, 26, 27 et 29

jours sont morts de phénomènes totalement étrangers à l'infection rabique ; il y a lieu d'admettre que du fait de nos inoculations, ils avaient acquis un degré d'immunité déjà très avancé, qui aurait sans doute donné lieu a quelque survie. Remarquons encore que quatre de ces lapins avaient été immunisés par la voie sous-cutanée.

Enfin les dix-neuf lapins restants ont tous présenté des prolongations d'incubation variant de deux jours jusqu'à soixante-cinq et soixante-onze jours.

Le résultat de nos essais d'immunisation sur les chiens n'est pas moins intéressant. Nous laissons de côté le chien mort de gale comme n'ayant pas nettement manifesté d'immunité. Mais un autre n'est mort de rage qu'au quarante-neuviéme jour de l'infection. Enfin un troisième s'est montré totalement réfractaire à la rage. Nous avons même pu nous rendre compte sur lui, que cet état d'immunité n'était pas transitoire, car infecté à nouveau avec de la rage des rues trois mois et demi après la dernière inoculation ce chien n'en a ressenti aucun dommage.

Si maintenant nous comparons les résultats fournis en donnant nos injections immunisantes par divers voies nous voyons, que contre le virus des rues, l'immunisation par voie sous-cutanée avec des cerveaux non virulents, s'est montrée beaucoup plus efficace que par voie péritonéale, mais nous pensons que cela a tenu plutôt à la nature du cerveau employé, qu'au mode d'inoculation.

Contre le virus fixe l'une et l'autre voie ont donné des résultats excellents, mais qu'il est difficile de comparer à cause de la mort accidentelle de tous nos lapins immunisés par la voie péritonéale.

Au contraire quand nous avons fait nos essais d'immunisation avec des cerveaux encore virulents, la voie péritonéale nous a paru plus efficace que la voie sous-cutanée.

Dans toutes nos expériences le nombre d'inoculations immunisantes a varié de six à douze, mais le succès de l'expérience ne parait pas en rapport avec leur nombre. Nous avons obtenu à peu près les mêmes résultats avec six, neuf, douze inoculations.

Enfin le succès a été grandissant à mesure que le mode d'inoculation devenait moins sévère. Nous n'avons obtenu qu'exceptionnellement, un bon résultat contre le virus fixe inoculé par trépanation, le nombre des survie va en augmentant quand le virus fixe est administré sous la peau, et nous n'avons aucune expérience ne donnant pas lieu à un certain degré d'immunité quand nous avons inoculé du virus des rues même par trépanation.

Enfin si nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur les résultats de nos essais avec des cerveaux à divers degrés de virulence et des cerveaux non virulents, nous voyons que tout semble se passer dans nos expériences comme s'il y avait dans les cerveaux rabiques à côté du principe virulent, un principe vaccinant, qui ne serait pas soumis aux mêmes influences que le premier. Il semble bien en effet que, tandis que la virulence des cerveaux varie depuis son maximun d'intensité jusqu'à disparition complète, le principe vaccinant ne manifeste aucun changement. L'immunité serait donc acquise par l'action de cette deuxième substance, que Pasteur avait d'ailleurs admise, et non comme le veut Gamaleïa, par l'action du virus transformé en vaccin.

CONCLUSIONS

De ces soixante-douze expériences ayant porté sur un cent de lapins et quelques chiens, nous déduisons les conclusions suivantes :

I. — La conservation de la virulence des cerveaux immergés en glycérine n'est pas indéfinie.

Après un mois elle subit un certain affaiblissement qui progresse environ jusqu'au dixième mois où il atteint son maximum.

Après dix mois d'immersion les cerveaux rabiques ne sont généralement plus virulents.

II. — Cet affaiblissement de la virulence ne suit pas une échelle progressivement descendante : Il oscille jusqu'à dix mois entre des périodes de huit et onze jours d'incubation, puis disparaît brusquement.

III. — Enfin pour une même durée d'immersion en glycérine nous n'observons pas un même degré de virulence.

IV. — Sous l'influence d'une température de 42° la virulence des cerveaux plongés en glycérine disparaît en quelques heures.

V. — Les cerveaux ainsi conservés jusqu'à disparition complète de la virulence, manifestent une certaine propriété préventive vis-à-vis de l'infection rabique.

VI. — Un seul et même cerveau suffit à conférer au lapin un certain degré d'immunité.

VII. — Cette immunité est d'autant plus nette que l'infection rabique est moins sévère. Rarement nos lapins ont résisté à la trépanation avec du virus fixe ; ils ont toujours manifesté un certain état réfractaire vis-à-vis du virus des rues même inoculé par trépanation.

VIII. — Les cerveaux plongés en glycérine, ayant perdu rapidement leur virulence sous l'influence d'une température élevée, agissent de même.

BIBLIOGRAPHIE

PASTEUR. — Lettre à Duclaux. *Ann.* (*Inst Pasteur* 1887.)

HELMAN. — Lettre de Pasteur à Duclaux. (*Annal Inst. Pasteur* 1887).

BRUSCHETTINI. — *Giorn. intern. delle sc. Mediche* douzième année 1890.

VIALA. — Sur les causes de l'atténuation des moelles rabiques. (*Ann. Inst Pasteur* 1888.)

CELLI. — Quelques-unes des propriétés du virus rabique. (*Ann. Inst, Pasteur* 1888.)

BABÈS ET LEPP. — Recherches sur la vaccination antirabique. (*Ann. Inst. Pasteur* 1889).

BABÈS ET TALASESCU. — Atténuation de virus fixe. Connaissances médicales 1887. (*Ann. Inst. Pasteur* 1894.)

Etudes sur la rage. (*Ann. Inst. Pasteur* 1892.)

BABÈS ET CHERCHEZ. — Expériences sur l'atténuation du virus rabique fixe (*Ann. Inst. Pasteur* 1891.)

PUSCARIU ET VESESCO. — Essais de vaccination antirabique avec le virus atténué par la chaleur. (*Ann. Inst. Pasteur* 1895.)

PROTOPOPOFF. — Sur les causes d'atténuation du virus rabique. (*Centralblat für Bakt. tome IV.*)

DE BLASI ET RUSSO TRAVALI. — (*Bolett. d. soc. d'Igiene di Palermo n° 11 et 12* 1889.)

CALABRÈSE. — De l'existence dans la nature, d'un virus rabique renforcé. (*Ann. Inst. Pasteur* 1896.)

Recherche sur l'immunisation contre la rage. (*Société italienne de médecine interne* 1897.)

VEYLON. — De l'action de quelques antiseptiques sur le virus rabique. (*Thèse de Montpellier* 1901.)

WYRSIKOWSKY. — *Wratch* 1891 n° 38.

TIZZONI ET CENTANNI. — *Deutsche médicinische Wochenschrift* 1892.)

FRANZIUS. — Die Galle tolle als Atitoxin gegen Tollwut. (*Centralblat für Bakt Bd XXIII.*)

VALLÉE. — Recherches sur les propriétés neutralisantes de la bile, à l'égard du virus rabique. (*Ann. Inst. Pasteur* 1899.)

LEBELL. — Recherches sur l'antitoxine dans la bile des animaux enragés. (*Centralblat für Bakt. Bd XXVI.*)

GALAVIELLE ET AOUST. — Expériences sur les prétendues propriétés antirabiques de la bile.

TIZZONI ET SCHWARZ. — Le sérum des animaux vaccinés contre la rage ; son rôle dans l'immunité et la guérison de cette maladie. (*Riforma medica* Août 1897).

RODET ET GALAVIELLE. — Expériences sur le pouvoir immunisant de la matière nerveuse rabique conservée en glycérine.

— Expériences sur le pouvoir immunisant de la matière nerveuse rabique, conservée en glycérine. (*Société de Biologie* 19 janvier 1901, et *nouveau Montpellier médical* t. XII 1901.

— Essais de sérothérapie antirabique. (*Société de Biologie*, 22 décembre 1900, et *Nouveau Montpeller Médical*, t. XII 1901.

— Etudes expérimentales sur le virus rabique. (*Société de Biologie*, décembre 1901, et *Nouveau Montpellier édical*, 29 décembre 1901.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Montpellier, le 27 Décembre 1901.
Le Recteur,
A. BENOIST.

VU ET APPROUVÉ :
Montpellier, le 27 Décembre 1901.
Le Doyen,
MAIRET.